

W Tetzlaff.

Bochum 1901.

Aus dem Institut für Anatomie, Arbeitsgruppe für
Experimentelle Cytologie
der
Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin
der
Ruhr-Universität Bochum

TIGHT JUNCTION UND GAP JUNCTION KONTAKTE IN DEN
NERVENFASERN DES NERVUS ISCHIADICUS DES HÜHNCHENS
WÄHREND DER MYELOGENESE, WALLERSCHEN DEGENERATION
UND NACHFOLGENDEN REGENERATION

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der
Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin
der
Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von
Wolfram Tetzlaff
aus Wuppertal

1980

Aus dem Institut für Anatomie, Physiologie für
Experimentelle Zoologie
der
Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin
der
Kaiser-Universität Bonn

Die Funktion des Kopfes ist in der
Nervenzellen des Gehirns isoliert aus dem
Körper des Tieres, während der Kopf
und die Nerven des Kopfes



Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der
Abteilung für Naturwissenschaftliche Medizin
der
Kaiser-Universität Bonn

vorgelegt von
Wolfgang Tetzlaff
aus Wuppertal

MEINEN ELTERN GEWIDMET

DRUCK: STADT DR. H. H. KUNZ

VERLAG: PAUL. DR. A. HOLLER

VERLAGSSTADT: TROIS DR. F. J. KUNZ

YAC 101 1000: 1000 1000: 1000

DEKAN: Prof. Dr. W. H. Kunau

REFERENT: Prof. Dr. K. Meller

KORREFERENT: Prof. Dr. K. H. Andres

TAG DER MÜNDLICHEN PRÜFUNG: 9.7.1981

GLIEDERUNG

1. Thema und Fragestellung
2. Ziele der Arbeit
3. Material und Methodik
 - 3.1. Versuchstiere
 - 3.2. Operation zur Nervenläsion
 - 3.3. Fixierung
 - 3.4. Präparation für die Licht- und Elektronenmikroskopie
 - 3.5. Gefrierätzungstechnik
 - 3.5.1. Präparationsverfahren
 - 3.5.2. Nomenklatur
4. Einführung in die Literatur und historischer Rückblick
 - 4.1. Morphologie und Funktion spezifischer Zellkontakte
 - 4.1.1. Tight Junction
 - 4.1.2. Gap Junction
 - 4.1.3. Desmosom und Intermediate Junction
 - 4.2. Zellkontakte in der peripheren Markscheide
 - 4.2.1. Einführung in den Aufbau der Markscheide
 - 4.2.2. Desmosomenähnliche Kontakte
 - 4.2.3. Axo-gliale Kontaktformen
 - 4.2.4. Tight Junction Kontakte
 - 4.3. Historischer Rückblick
 - 4.3.1. Die Nervenfasern
 - 4.3.2. Das Myelin
 - 4.3.3. Myelogenese
 - 4.3.4. Wallersche Degeneration und nachfolgende Regeneration
5. Ergebnisse
 - 5.1. Entwicklung von tight Junction Kontakten während der Myelogenese
 - 5.1.1. Prämyelinisierende Fasern
 - 5.1.2. Auftreten von tight Junction Kontakten mit beginnender Myelinisierung
 - 5.1.3. Tight Junction Spezialisierungen im äußeren Mesaxon
 - 5.1.4. Tight Junction Spezialisierungen im inneren Mesaxon

- 5.1.5. Tight Junction Spezialisierungen im paranodalen Abschnitt der Markscheide
- 5.1.6. Axo-gliale Membrandifferenzierungen in myelinisierenden Fasern
- 5.1.7. Zusammenfassung der Befunde zur Entwicklung der tight Junction Kontaktzone
- 5.2. Tight Junction Kontakte in der Markscheide vier Wochen alter Hühnchen unter Berücksichtigung der Fasergröße
 - 5.2.1. "Marklose" Nervenfasern
 - 5.2.2. "Kleine" Markscheiden
 - 5.2.3. "Große" Markscheiden
 - 5.2.4. Axo-gliale Kontaktformation
- 5.3. Wallersche Degeneration und nachfolgende Regeneration
 - 5.3.1. Lichtmikroskopische Übersicht über die Stadien der Wallerschen Degeneration
 - 5.3.2. Wallersche Degeneration des Myelin im Gefrierätzungsbild
 - 5.3.3. Abbau der myelinären tight Junction Kontakte bei Wallerscher Degeneration
 - 5.3.4. Temporäre Gap Junction Kontakte zwischen den Zellen der Büngnerschen Zellbänder
 - 5.3.5. Membranspezialisierungen in Axonsprossen
 - 5.3.6. Wiederauftreten von tight Junction Kontakten in der frühen Phase der Remyelinisierung
 - 5.3.7. Regenerierte axo-gliale Kontaktformation

6. Diskussion

- 6.1. Rekapitulation der Befunde
- 6.2. Die Entwicklungsschritte der myelinären Zonula occludens
- 6.3. Morphologie der myelinären tight Junction Elemente
- 6.4. Ausprägung der myelinären tight Junction Kontaktzone
- 6.5. Funktionelle Bedeutung der myelinären tight Junction Kontakte für die morphogenetischen Prozesse der Spiralisierung der Markscheide
- 6.6. Funktionelle Aspekte der myelinären tight Junction Kontaktzone als Permeabilitätsbarriere in den Membranen der Mesaxone und paranodalen Schleifen
- 6.7. Abbau der myelinären tight Junction Kontakte bei Wallerscher Degeneration

6.8. Temporäres Auftreten von Gap Junctions in
den Schwann-Zellbändern

- 7. Zusammenfassung und Konklusion
- 8. Literatur
- 9. Danksagungen
- 10. Lebenslauf

1. THEMA UND FRAGESTELLUNG

Seit über 25 Jahren ist bekannt, daß die Markscheiden der Nervenfasern aus einer spiraligen Schwann-Zellwicklung hervorgehen (Geren, 1954).

In jüngeren Untersuchungen zum Spiralisierungsprozeß der Markscheide werden sowohl eine Verlängerung der inneren Schwann-Zellzunge als auch eine Verlängerung der äußeren Schwann-Zellzunge, welche das Axon umkreisen, diskutiert (Webster, 1971). Wie dieses geschieht, ist jedoch kaum verstanden (Webster, 1971). Da in reifen Markscheiden peripherer Nerven tight Junction Kontakte zwischen den Membranen dieser Zungen und den benachbarten Wicklungen beschrieben wurden (Mugnaini und Schnapp, 1974; Schnapp und Mugnaini, 1975; Sandri et al., 1977; Bertaud, 1978; Schnapp und Mugnaini, 1978), bestehen Vorstellungsschwierigkeiten in bezug auf die bisherigen Myelinspiralisierungsmodelle (Bertaud, 1978).

Es stellte sich die Frage nach dem Auftreten und der funktionellen Bedeutung dieser Kontakte beim Spiralisierungsprozeß der Markscheide.

Ein intensives und frühes Auftreten dieser Kontakte bei der Myelogenese (Tetzlaff, 1978) warf die Frage auf, ob auch bei einer Remyelinisierung der Markscheide diese Kontakte beteiligt sind, was ihre funktionelle Bedeutung in den frühen Stadien der Markscheiden-spiralisierung unterstreichen würde.

Daher wählte ich zur vorliegenden Studie die biologischen Ereignisse der Myelogenese, Wallerschen Degeneration und Remyelogenese im peripheren Nerven, um Aufbau, Abbau und Wiederaufbau dieser tight Junction Kontakte zu verfolgen und ihre funktionelle Rolle in den Markscheiden - insbesondere bei den morphogenetischen Prozessen - zu beleuchten.

Die Wallersche Degeneration ist durch den Zerfall der Markscheiden, sowie die Proliferation, Migration und Umorientierung der Schwann-Zellen charakterisiert. Diese Schwann-Zellen ordnen sich in die von Büngnerschen Zellbänder an, in welche die neu aussprossenden Axone einwachsen (siehe als neuere Übersichtsreferate: Thomas, 1974; Allt, 1976).

Aus Untersuchungen embryonaler Gewebe ist bekannt, daß derartige Prozesse der Zelldifferenzierung, Proliferation, Migration und Umorientierung von Zellen vom vorübergehenden Auftreten von Gap Junction Kontakten begleitet sein können (zur Übersicht siehe Pannese et al., 1977). Diesen temporären Gap Junctions wird hier eine wichtige Funktion als Koordinatoren dieser Prozesse zugeordnet, da sie als Vermittler einer interzellulären Kommunikation anzusehen sind (als Übersicht siehe: Staehelin, 1974; Gilula, 1977; Loewenstein, 1977; Bennett und Goodenough, 1978).

Es stellt sich daher die Frage nach einer Beteiligung zellulärer Kontakte - insbesondere kommunizierender Kontakte - an den zellulären Ereignissen der für die Nervenregeneration bedeutsamen Prozesse.

Zur Beantwortung dieser Fragestellungen wurde als Hauptmethode die Gefrierätzungstechnik gewählt, da nur sie es erlaubt, Zellmembranen großflächig für ein dreidimensionales Studium von Zellkontakten und Membranspezialisierungen freizulegen.

2. ZIELE DER ARBEIT

- 1) Das Studium der myelinären Zellkontakte im Ischiasnerven des Hühnchens, die Verfolgung ihres Auftretens während der Myelogenese und die Analyse ihrer Beziehung zu dem Spiralisierungsprozeß der Markscheide.
- 2) Die Freilegung der dreidimensionalen Ausdehnung und Ausprägung der myelinären tight Junction Kontakte in den Membranen der Mesaxone und paranodalen Schleifen im Hinblick auf fasergrößenspezifische Unterschiede.
- 3) Im experimentellen Teil der Arbeit, unter den Bedingungen der Wallerschen Degeneration nach Nervenquetschung: Die Verfolgung der Reaktion und des Schicksales der myelinären Kontakte zur Erörterung ihrer Rolle beim Markscheidenzerfall.
- 4) Die Analyse einer Beteiligung von spezifischen Zellkontakten (Gap Junctions, tight Junctions) an den zellulären Ereignissen der Wallerschen Degeneration.
- 5) Studium der Neubildung der myelinären tight Junction Kontakte bei der Remyelinisierung nach Wallerscher Degeneration zur Beleuchtung ihrer funktionellen Bedeutung für die morphogentischen Prozesse der Markscheidenspiralisierung.

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. VERSUCHSTIERE

Für die Untersuchung der Myelogenese und der differenzierten Markscheiden wurden die Ischiasnerven von Hühnerembryonen nach 10, 12, 14, 18 und 20 Tagen der Bebrütung, sowie von Küken im Alter von 1 und 3 Tagen bis hin zum Alter von 3 bis 4 Wochen nach dem Schlüpfen verwendet.

Die Tiere gehörten zur weißen Leghorn Rasse und waren beiderlei Geschlechts.

Zum Studium der Zellkontakttereignisse bei der Wallerschen Degeneration und Regeneration dienten die Nervi ischiadici von 3 bis 4 Wochen alten Hühnchen als Kontroll- und als Versuchsmaterial für die Nervenläsionsexperimente.

3.2. OPERATION ZUR NERVENLÄSION

In Narkose (Äther, Chloralhydrat) wurden die rechten Nervi ischiadici unter sterilen Operationskautele in Oberschenkelmitte freigelegt. In der Regel konnte ein Muskelschnitt umgangen werden. Der freigelegte Nerv wurde mit einer Dumontpinzette (Nr. 5) vollständig gequetscht, wobei diese für ca. 10 Sekunden lang fest geschlossen gehalten wurde. Eine Hautnaht erfolgte anschließend als Einzelknopfnah mit steriler Seide (Ethicon, 2 metric). Den Tieren wurden Überlebenszeiten von 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 19, 40 und 90 Tagen eingeräumt, wobei in den Gruppen 2 bis 12 Tage jeweils 6 bis 8 Tiere, in den anderen Gruppen 2 bis 4 Tiere zur Untersuchung gelangten.

3.3. FIXIERUNG

Zur Fixierung wurden die Embryonen und Hühnchen dekapitiert, die Nervi ischiadici freigelegt und für 10 Minuten in situ mit Fixierlösung umspült. Als Fixierlösung diente 2,5% Glutaraldehyd (SERVA) in 0,12 molarem Phosphatpuffer bei pH 7,4. Zur Fixierung der Nerven der jungen Hühner wurde in den späteren Phasen der Versuche ein Aldehydgemisch aus 1% Paraformaldehyd und 2,5% Glutaraldehyd verwendet. Nach Fixierung in situ wurde ein etwa 2 bis 5 Millimeter langer Abschnitt aus dem Oberschenkelbereich entnommen und in der gleichen Fixierlösung für 12 Stunden durchfixiert.

3.4. PRÄPARATION FÜR DIE LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPIE

Die aldehydfixierten Nervenabschnitte wurden mit Rasierklingen in ca. 0,5 Millimeter lange Stücke unterteilt. Nach kurzem Waschen in Hanks-Lösung für 3 mal 5 Minuten erfolgte die Nachfixierung in Osmiumtetroxid-Kaliumdichromat (nach Dalton) für weitere 2 Stunden. Anschließend wurden die Nervenstücke in NaCl Lösung gespült und zur Blockkontrastierung in eine wässrige Lösung von Uranylacetat gegeben. Letztere besaß Raumtemperatur und war mit einem Maleatpuffer auf pH 5 eingestellt. In einer aufsteigenden Methanolreihe wurden die Nervenstücke im Verlauf von 2 Stunden entwässert und anschließend über Propylenoxid in Araldit (FLUKA) eingebettet.

Auf Objektträger aufgezogene Semidünnschnitte wurden mit Azur-II-Methylenblau gefärbt und durch eine Ölimmersionsoptik bei 40facher Primärvergrößerung fotografiert.

Ultradünnschnitte wurden nach dem Auffischen auf Formvar beschichtete Kupferträgernetze mit Uranylacetat und Bleicitrat nachkontrastiert und anschließend im Siemens Elmiskop I A mikroskopiert. Sofern es nicht anders vermerkt ist, wurden sämtliche Chemikalien von der Firma MERCK bezogen.

3.5. GEFRIERÄTZUNGSTECHNIK

3.5.1. Präparationsverfahren

Es wurde in den Grundzügen die von Moor und Mühlethaler (1963) und Moor (1964) beschriebene Präparations-technik angewandt. Für die Gefrierätzung wurden die aldehydfixierten, zerkleinerten Nervenstücke in Phosphatpuffer mehrfach für ca. fünf Minuten gewaschen und in ein 10%, 20% und 30% Glycerin/Phosphatpuffer-Gemisch für jeweils eine Stunde eingebracht. Die Nervenstückchen wurden auf Goldträgerplättchen (BALZERS) in geeigneter Orientierung aufgesetzt und in Freon 22 (DUPONT) schnell eingefroren. Hierbei war das Freon 22 mit flüssigem Stickstoff in Schmelzpunktnähe heruntergekühlt (ca. -150°C). Die Präparate konnten bis zur Präparation unter flüssigem Stickstoff aufbewahrt werden (-196°C).

Zur Gefrierätzung wurden die Präparate in einer Gefrierätzungsanlage (BALZERS BAF 300) bei einem Vakuum von besser als 2×10^{-6} bar bei -110°C gebrochen, nicht länger als 30 Sekunden geätzt und bedampft. Unter Ätzung wird die Sublimation des Wassers von der Gewe-beoberfläche verstanden. Zur Platin-Kohle-Bedampfung aus einem Winkel von 45 Grad und zur senkrechten Kohle-Bedampfung dienten Elektronenstrahlverdampfer (BALZERS 552).

Nach Trennung der Bedampfungsschicht (Replika oder Abdruck genannt) vom Gewebe in Natriumhypochlorid (10% einer gesättigten Lösung) wurden die Abdrücke in

destilliertem Wasser mehrfach gewaschen und auf Formvar beschichtete Kupfernetze aufgezogen. Auch sie wurden im SIEMENS Elmiskop I A mikroskopiert und auf Filmplatten (GUILLEMINOT) fotografiert. In den Abbildungen ist die Bedampfungsrichtung mit einem $\emptyset$ markiert; die Platin beschichteten Stellen erscheinen dunkel, die sog. "Bedampfungsschatten" hell.

3.5.2. Nomenklatur

Zur Beschreibung der Membranbruchflächen wurde die Vereinbarung über die Gefrierätzungs-nomenklatur von Branton et al. (1975) übernommen. Hierin wird von einer Spaltung der Zellmembran in der Ebene der - in vielen Membranmodellen angenommenen - Lipiddoppelschicht ausgegangen, wie es von Branton (1966) vorgeschlagen worden war. Die Membranbruchfläche, die am Zytoplasma haften bleibt, wird als "Protoplasmic Fracture Face" (PFF) und die externe Membranbruchfläche als "Ectoplasmic Fracture Face" (EFF) bezeichnet. Jüngste Untersuchungen (Sjöstrand, 1979) stellten die Allgemeingültigkeit eines Aufspaltens der Membranen in Frage, da nicht alle Membranen diesen Aufbau aus Lipiddoppelschicht besitzen, wie zum Beispiel die Photorezeptormembran. Da sich die vorliegende Untersuchung auf das Vorkommen und die Ausprägung von Zellkontakten konzentrieren wird und nicht einen Beitrag zur Ultrastruktur der Membranen liefern will, ist diese Problematik der Membranbruchtheorien für die Bewertung der vorliegenden Befunde von untergeordneter Bedeutung. Außerdem scheint sich die lipidreiche Myelinmembran noch am ehesten nach der Theorie von Branton zu verhalten, was auch von Sjöstrand (1979) eingeräumt wird. Es werden daher die Vereinbarungen der Gefrierätzungs-nomenklatur von Branton et al. (1975) eingehalten.

4. EINFÜHRUNG IN DIE LITERATUR UND HISTORISCHER RÜCKBLICK

4.1. MORPHOLOGIE UND FUNKTION SPEZIFISCHER ZELL- KONTAKTE

Spezifische Zellkontakte rückten in den beiden vergangenen Jahrzehnten zunehmend in das Interesse einer breiten Forschung. Das Verständnis der zellulären Kontakte konnte sowohl durch spezielle Techniken der Transmissionsmikroskopie, Traceruntersuchungen, elektrophysiologische Abteilungen und Injektionsstudien, als auch durch biochemische Analysen vertieft werden (Farquhar und Palade, 1963; Revel und Karnovsky, 1967; Brightman und Reese, 1969; Chalcroft und Bullivant, 1970; Goodenough und Revel, 1970; Mc Nutt und Weinstein, 1970; Evans und Gurd, 1972; Friend und Gilula, 1972; Goodenough und Stoekenius, 1972; Mc Nutt und Weinstein, 1973; Staehelin, 1974; Duguid und Revel, 1976; Gilula, 1977; Loewenstein, 1977; Bennett und Goodenough, 1978). Insbesondere der Gefrierätzungstechnik in ihrer Modifikation nach Moor und Mühlethaler (1963) (als Übersichtsreferate siehe: Moor, 1964; 1969; Mc Nutt, 1977) sind große Fortschritte auf diesem Gebiet zu verdanken, da sie erlaubt, Zellmembranen aufzubrechen, um deren Innenstruktur für ein Studium von Zellkontakten auf makromolekularer Ebene großflächig freizulegen (Branton, 1966; Myelinmembranen: Branton, 1967; Tani et al., 1973; Mugnaini, 1978). Mit diesem Verfahren ließen sich Zellkontakttypen differenzieren, auf deren Beschreibung hier kurz eingegangen werden soll:

4.1.1. Tight Junctions

Farquhar und Palade (1963) prägten den Terminus "tight Junction" für einen im Ultradünnschnitt zu identifizierenden Zellkontakt, der als eine Verschmel-

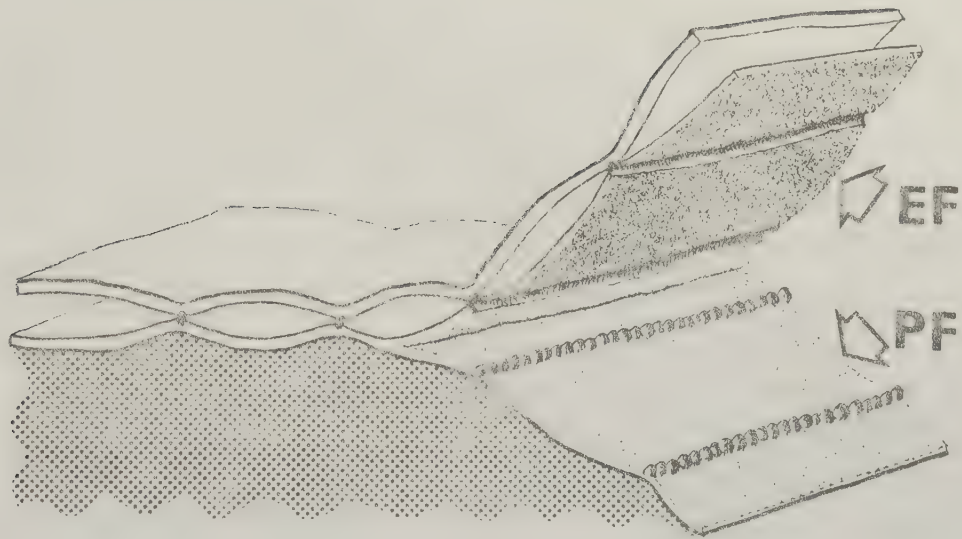


Abbildung 1

Schematisierte Darstellung von tight Junction Kontakten nach Befunden der einleitend zitierten Autoren. Im Schnittbild erscheint die tight Junction als punktförmige Fusion zweier aneinanderliegender Membranen. Das dreidimensionale Gefrierätzungsbild zeigt an den Stellen des Membrankontaktes Ketten intramembranöser Partikel. Im fixierten Präparat brechen diese Ketten meist mit den PF-Membranflächen, wo sie als etwa 9 Nanometer breite Leisten imponieren. In der beim Aufbrechen der Membran abgehobenen externen Membranbruchfläche (EF) bleibt eine feine Furche zurück.

zung zweier trilaminärer Einheitsmembranen zu einem pentalaminären Membrankontakt imponiert und als solcher von einigen Autoren bereits beschrieben worden war (z.B. "Quintuple-layered cell interconnections", Karrer und Cox, 1960). Typischerweise bilden diese Kontakte in den Schlußleisten von Epithelien eine gürtelartig um die Zelle herumlaufende Kontaktzone, die dann als "Zonula occludens" bezeichnet wird (Farquhar und Palade, 1963). Diese fungiert als Permeabilitätsbarriere und trägt somit zur Kompartimentisierung von Geweben bei (u. a. Farquhar und Palade, 1963; Reese und Karnovsky, 1967; Brightman und Reese, 1969, Staehelin, 1974). Im Gefrierbruch erscheinen die tight Junctions als feine, ungefähr 9 Nanometer breite Leisten in den am Zytoplasma anhaftenden Membranbruchflächen, während sie als feine Furchen von etwa 3-4 Nanometer Breite in den externen, - hierzu komplementären - Membranbruchflächen darzustellen sind (Kreutziger, 1968; Staehelin et al., 1969; Chalcroft und Bullivant, 1970; Goodenough und Revel, 1970; Staehelin, 1973; 1974; Wade und Karnovsky, 1974a).

Siehe zur Illustration dieser Beschreibung die Abbildung 1, die auf Befunden der oben angeführten Autoren beruht.

Einige Zeit wurde mit der tight Junction ein anderer Zellkontakttyp verwechselt, die

4.1.2. Gap Junction

Sie läßt sich im Ultradünnschnitt durch eine septalaminäre Schichtung der Membranen von den pentalaminären tight Junctions unterscheiden (erstmalig Rosenbluth, 1965). Diese septalaminäre Schichtung wird durch einen 2 bis 3 Nanometer breiten Spalt zwischen den aneinanderliegenden Einheitsmembranen hervorgerufen, was zu dem Namen "Gap Junction" führte (Revel et al., 1967). Die Zugänglichkeit dieses Spaltes für Lanthan, ein Tracer

des Extrazellularraumes, wurde erstmals von Revel und Karnovsky demonstriert (1967). In Flachschnitten tritt ein teilweise hexagonales, oft auch nur polygonales Muster von etwa 8 Nanometer großen, dicht gelagerten Einheiten auf (Revel und Karnovsky, 1967). Dieses Muster wurde bereits von Robertson (1963) in der "elektrotonischen Mauthner-Zell-Synapse" und von Dewey und Barr im "Nexus" des Myokard (1964) beschrieben; heute werden diese Kontaktformen unter dem Begriff Gap Junction zusammengefaßt.

Diesen dicht gelagerten Einheiten entsprechen die teils hexagonal, teils polygonal angeordneten ca. 8 bis 9 Nanometer großen Partikel in den Gefrierbrüchen der Kontakte (Kreutziger, 1968; Chalcroft und Bullivant, 1970; Goodenough und Revel, 1970; Mc Nutt und Weinstein, 1970; 1973). Diese Partikel weisen bei geeigneter Präparation eine kleine zentrale Vertiefung auf (u.a. Mc Nutt und Weinstein, 1970; 1973). Letztere entspricht einem 1 bis 2 Nanometer breiten hydrophilen Zentrum in den negativ kontrastierten Ultradünnschnitten der Einheiten (Revel und Karnovsky, 1967; Zampighi und Robertson, 1973; Gilula, 1977). Die Einheiten werden somit als Röhrchen angesehen, die gemeinsam mit jeweils einem Röhrchen der benachbarten Membran ein Zell-zu-Zell-Kanälchen bilden (Payton et al., 1969; Mc Nutt und Weinstein, 1970; 1973; Goodenough, 1976; Loewenstein, 1977). Da hier ein Übertritt von Ionen und kleinen Molekülen stattfinden kann, werden die Gap Junctions als ein Vermittler der interzellulären Kommunikation angesehen (als neue Übersichtsreferate siehe: Gilula, 1977; Loewenstein, 1977; Pitts, 1977; Bennett und Goodenough, 1978). Weiterhin ordnen einige Autoren den Gap Junctions ebenso wie den tight Junctions eine mechanische Haftfunktion zu (Goodenough und Gilula, 1974; Wade und Karnovsky, 1974b). Diese dürfte allerdings in ihrer Bedeutung im Vergleich zu

den sogenannten Haftkontakten, wie

4.1.3. Desmosomen und intermediate Junctions

(Zonula adherens) (Farquhar und Palade, 1963) nur gering sein. Während Desmosomen im Gefrierätzungsbild eine deutliche Membranrauhigkeit aufgrund einstrahlender Filamente bilden, sind die Zonula adherens-Kontakte nicht deutlich im Gefrierätzungsbild faßbar (Staehelin, 1974). Ein Überblick über Struktur und Funktion der verschiedenen Zellkontakttypen kann dem Review von Staehelin (1974) entnommen werden.

4.2. ZELLKONTAKTE IN DER PERIPHEREN MARKSCHEIDE

4.2.1. Aufbau der Markscheide

Die vorliegende Studie konzentriert sich auf spezifische Zellkontakte vom tight Junction und Gap Junction Typ in der peripheren Nervenfaser.

Die periphere Nervenfaser besteht aus dem eigentlichen Nervenzellfortsatz, dem Axon, und einer begleitenden, das Axon umschließenden Zelle, der Schwann-Zelle (Lehmann, Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen, 1959). Letztere ist zur Bildung der sogenannten Markscheide fähig, worunter wir die spiralig um das Axon herungewickelte Zelllamelle einer Schwann-Zelle verstehen, welche einen Axonabschnitt von über 1 Millimeter Länge mit mehr als hundert Doppelmembranwicklungen umgeben kann. Während zu Beginn ihrer Entwicklung die Markscheide aus nur wenigen Wicklungen einer zytoplasmatischen Schwann-Zellzunge besteht, entweicht mit fortschreitender Differenzierung auf nicht näher geklärte Weise das Zytoplasma aus den Wicklungen, die dann nur noch aus einer spezialisierten Doppelmembran aufgebaut sind. Lediglich einige Serien kleiner Zytoplasmaeinschlüsse verbleiben in der Markscheide selbst und werden hier als Schmidt-Lantermansche Inzisuren

bezeichnet. Zytoplasmahaltig bleibt ebenso der Rand der spiralig aufgewickelten Myelinscheide. Dieser Rand besteht aus der innersten, dem Axon aufliegenden Wicklung, aus den paranodalen Schleifen - die durch Wicklung des proximalen und distalen Randes der Schwannschen Zelle (Geren-Uzman und Nogueira-Graf, 1957; Robertson, 1959) entstehen, sowie aus der äußersten Wicklung, die den Zellkern beherbergt. Die aneinanderliegenden Membranen der äußersten und innersten Wicklung werden als Mesaxone bezeichnet. Die entsprechende Literatur und weitere histologische Details können dem historischen Rückblick entnommen werden.

An Zellkontakten wurden in den Markscheiden peripherer Nerven bisher Desmosomen-ähnliche Kontakte, tight Junctions, sowie eine spezielle axo-gliale Kontaktformation beschrieben.

4.2.2. Desmosomen-ähnliche Kontakte

(desmosome-like), deren Morphologie der der intermediate Junctions (Zonula adherens) entspricht, wurden in den Membranen der äußeren Mesaxone, den äußeren Anteilen der Schmidt-Lantermanschen Inzisuren und zwischen den paranodalen Schleifen beschrieben (u.a. Harkin, 1964; Gamble und Gosset, 1966; Berthold, 1968; Hall und Williams, 1970; Dolapchieva und Lierse, 1975).

Wegen der ihnen zugeschriebenen Haftfunktionen werden sie hier als Stabilisatoren der Markscheide angesehen. Darüber hinaus sahen Dolapchieva und Lierse (1975) in ihnen Orte eines besonders aktiven Membraneinbaus in myelinisierenden Fasern.

4.2.3. Zwischen den paranodalen Schleifen der Markscheide und den Axonen fand sich die sogenannte axo-gliale Kontaktformation. Sie stellt sich im Ultradünnschnitt als Serie punktförmiger Verdichtungen des Extrazellularspaltes zwischen Axonmembran und paranodalen

Schleifen der Markscheide dar (Elfvin, 1961; Bargmann und Lindner, 1964; Andres, 1965). In Gefrierätzungsuntersuchungen an Markscheiden des PNS und ZNS kamen eine Fülle unterschiedlicher Darstellungen ihrer Ultrastruktur zu Tage (Livingston et al., 1973; Dermietzel, 1974b; Schnapp und Mugnaini, 1975; Rosenbluth, 1976; Schnapp et al., 1976; Sandri et al., 1977; Rosenbluth, 1979b; Wiley und Ellisman, 1980). Teilweise dürften diese Unterschiede präparatorisch bedingt (Wiley und Ellisman, 1980), teilweise wohl auch speziesabhängig sein. Rosenbluth (1978, 1979b) und Dermietzel et al. (1978) konnten zeigen, daß die gliale Membranspezialisierung dieses Kontaktypes nicht auf die Kontaktstelle von Axon und Glia beschränkt ist. Außerdem kann die axonale Membranspezialisierung auch ohne Myelinisierung auftreten (Ellisman, 1979). Über die funktionelle Bedeutung der axo-glialen Junction bestehen zur Zeit nur hypothetische Vorstellungen (Wiley und Ellisman, 1980). Es soll daher bei der Beschreibung unserer Präparate nur kurz auf ihre Morphologie in den Markscheiden des Nervus ischiadicus des Hühnchens eingegangen werden.

4.2.4. Tight Junction Kontakte wurden eingehend in den Markscheiden des Zentralnervensystems von Fischen, Amphibien und Säugern beschrieben (Dermietzel, 1974a; Reale et al., 1975; Schnapp und Mugnaini, 1975; Sandri et al., 1977; Reier et al., 1978; Schnapp und Mugnaini, 1978; Tabira et al., 1978; Shinowara et al., 1980). Dagegen sind die Informationen über tight Junction Kontakte in den Markscheiden peripherer Nerven spärlicher. Im PNS von Tauben, Hühnchen und Ratten (Mugnaini und Schnapp, 1974), von Fischen, (Sandri et al., 1977) sowie vom Goldfisch (Bertaud, 1978) fanden sich tight Junction Kontaktzonen in den Membranen der Mesaxone, paranodalen Schleifen und Schmidt-Lantermanschen

Inzisuren. Da tight Junctions als Permeabilitätsbarrieren angesehen werden, wurde von Mugnaini und Schnapp (1974) vorgeschlagen, daß die Kontakte den zwischen den Myelinwicklungen gelegenen extrazellulären Spaltraum von dem extramyelinär gelegenen Extrazellularraum abtrennen.

Erst kürzlich erschien eine Studie von Shinowara et al. (1980) über myelinäre tight Junction Kontakte in den peripheren und zentralen Markscheiden von Fischen, Amphibien und Säugern. Hierin werden deutliche Variationen der Ausprägung der tight Junction Kontaktzone zwischen den Spezies aber auch innerhalb der Fasern eines Nerven zum Ausdruck gebracht.

Auf die Befunde der oben erwähnten Autoren soll in der Diskussion näher eingegangen werden.

4.3. HISTORISCHER RÜCKBLICK

4.3.1. Die Nervenfaser

Bereits Leeuwenhoek beschrieb 1687 die Nervenfaser als ein Röhrchen mit glatter Kontur, welches eine spezielle transparente Flüssigkeit einschließt.

Dieser Befund wurde durch Fontana (1781, zitiert nach Gedoelst, 1886) um Wesentliches erweitert. Er berichtete, daß ein Nerv aus einer großen Zahl transparenter Zylinder bestehe, welche eine sehr feine gleichmäßige Wandung aufweisen und von einer gelatinösen, nicht wasserlöslichen Flüssigkeit gefüllt zu sein scheinen.

Jeder dieser Zylinder erhält eine Umhüllung in Form einer äußeren Scheide, die aus einer immensen Zahl gewundener Fäden bestehe (heute: Endoneuralscheide).

Nach Entfernung dieser äußeren Scheide konnte er einen primitiven Nervenzyylinder ausmachen, der aus einem sehr kleinen, noch gleichförmigeren, durchsichtigen Zylinder bestehe (heute: Axon), und der von einer anderen Substanz umgeben ist, die möglicherweise



Abbildung 2

Ausschnitt einer Tafel aus dem Werk von Theodor Schwann (1839).

Die Zeichnungen 9d und c zeigen deutlich den Kern und den Zytoplasmasaum der nach diesem Autor benannten Schwann-Zellen.

zellulärer Natur sei (heute: Markscheide, Schwann-Zelle).

Remak (1836; 1837) bestätigte diesen Aufbau der Nervenfasern aus "Primitivband" (Axon), "Primitivröhre" (Markscheide) und "Faseriger Hülle". Remak (zitiert nach Schwann, 1839) wies darauf hin, daß der Unterschied zwischen weißen und grauen Nervenfasern darin begründet liege, daß das "Blaue Primitivband", welches er an vegetativen Fasern beschreibt, die eigentliche Nervenfasern sei und die weiße Substanz lediglich eine Art Rinde um dieselbe darstelle.

Theodor Schwann, der ebenso wie Remak zu den Schülern von Johannes Müller in Berlin zählte, beschrieb (1839) die Zunahme der weißen Substanz in sich differenzierenden foetalen Nervenfasern und sah sie als eine "sekundäre Ablagerung auf der Innenfläche der Zellmembran" von derjenigen Zelle an, die bis heute seinen Namen trägt, und die er wie folgt beschreibt: "Die weiße Substanz jedes Nerven ist außen mit einer strukturlosen, fein granuliert aussehenden Haut umgeben". Letztere "erscheint als ein schmaler, heller Saum, welcher sich deutlich von den dunklen Konturen der weißen Substanz unterscheidet". Er beschrieb hier und da einen Zellkern, der in dem "blassen Saum" liegt (siehe Abb. 2: 9d und c aus dem Werke Th. Schwanns). Schwann glaubte allerdings, daß jede Nervenfasern in ihrem ganzen Verlauf eine "sekundäre" Zelle sei und durch Verschmelzung "primärer" mit Kern versehener Zellen entstehe. Dieses Konzept wurde von der Schule der Polygenisten noch bis in das 20. Jahrhundert hinein beibehalten, worauf beim Rückblick auf die Wallersche Degeneration kurz eingegangen werden soll. Obwohl Remak bereits 1837 bemerkte, daß die Primitivbänder der vegetativen Nerven aus den Ganglienzellen hervorgehen, wurde die eigenständige Existenz eines Achsenzylinders

als Fortsatz der Nervenzelle noch längere Zeit umstritten. Kölliker (1850) wies ebenso wie Remak (1853, Axenschlauch) auf die eigenständige Existenz des Axenzylinders hin, der nach Deiters (1865) "Axenzylinderfortsatz" bezeichnet wurde, um damit seinen direkten Ursprung aus der Nervenzelle zum Ausdruck zu bringen.

Über die Struktur der Markscheide und ihre Beziehung zum Axon und zur Schwann-Zelle herrschten bis ins 20. Jahrhundert hinein nur unklare Vorstellungen, da das Bild der Markscheide weitgehend von den jeweiligen Präparationsmethoden bestimmt war. Es soll daher nicht näher auf die zahlreichen Artefakte und Äquivalentbilder eingegangen werden, wie z.B. das "Neurokeratin" (Ewald und Kühne, 1877), auch wenn sie zur damaligen Zeit wichtige Erkenntnisse darstellten und Impulse zu neuen Untersuchungen gaben. Der speziell interessierte Leser mag hier auf die Übersichtsreferate von Gedoelst (1886), Stöhr jr. (1928), Lehmann (1959) hingewiesen werden.

Auch die nach Schmidt (1874) und Lanterman (1877) benannten Einkerbungen waren jahrzehntelang als Artefakte umstritten. Bereits Remak (1837) beschrieb an den "Primitivröhren" der Markfasern Formen "ineinandergesteckter Trichter", jedoch konnte er sich nicht entscheiden, inwieweit diese Artefakte darstellten. Schmidt (1874) beschrieb sie als "indentations" in der doppelt konturierten Nervenfasern, die er als Falten der Markscheide ansah, "produced by certain processes". Lanterman (1877) glaubte, jedem der zylindrokonischen Segmente zwischen den Einkerbungen einen Zellkern zuzuordnen zu können und sprach von sogenannten "Kernabtheilungen" der markhaltigen Nervenfasern. Dieser Vorstellung wurde durch Ranvier widersprochen, der in den siebziger Jahren des vorigen Jahrhunderts ein sehr modernes Konzept der Markscheide entwarf (1878, siehe Abb. 3).

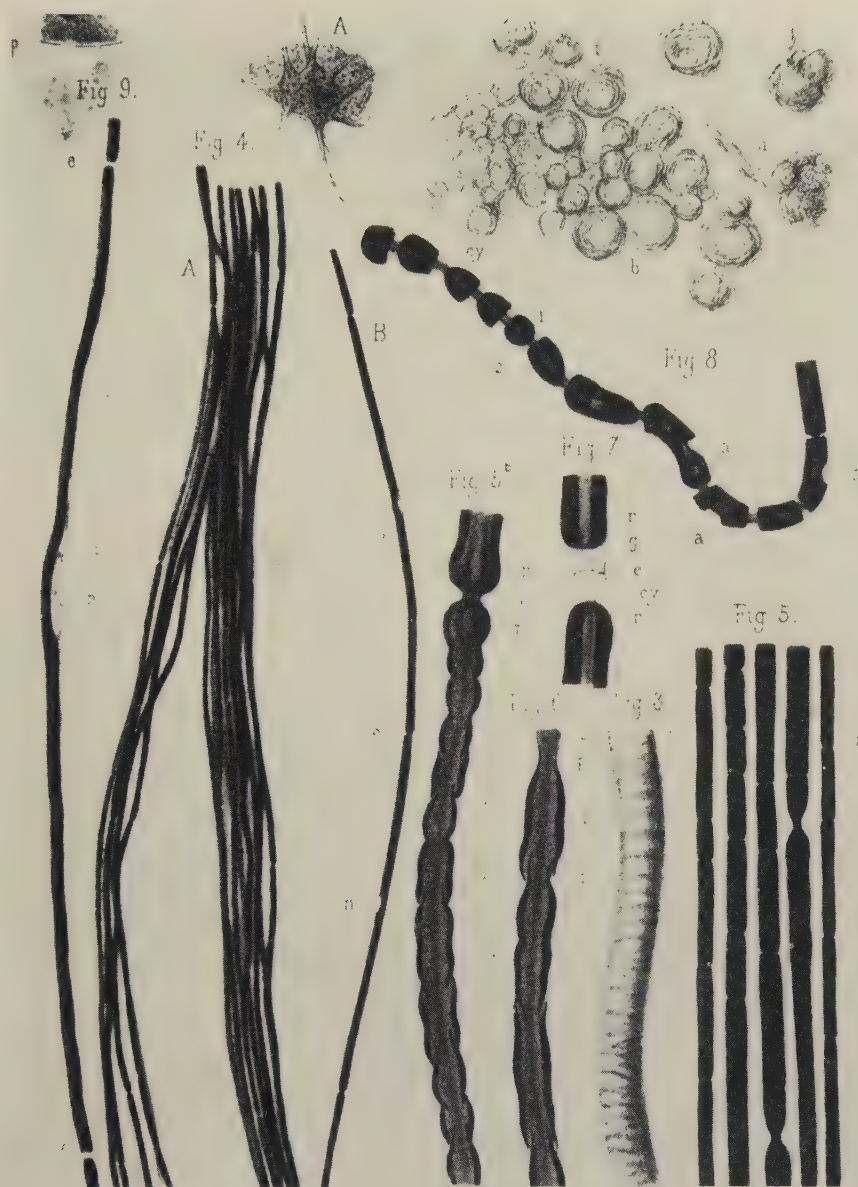


Abbildung 3

Illustration der Befunde am peripheren Nerven aus dem Werk von Ranvier: "Leçons sur l'histologie du Système Nerveux" aus dem Jahre 1878.

Ranvier (1871) unterschied die hellen, schräg verlaufenden Linien der Indentationen von den annulären Einschnürungen "Anneaux constricteurs des tubes nerveux", die die Markhülle der Fasern in regelmäßige Segmente unterteilen (Ranvierscher Knoten, Ranvier node). Ranvier (1872a) konnte jedem interannulären (internodalen) Segment einen Zellkern zuordnen, der meist in dem mittleren Abschnitt zwischen zwei Einschnürungen gelegen ist. Der kontinuierliche Axenzylinder wird also abschnittsweise von Schwann-Zellen eingehüllt. Diese Schwann-Zellen verglich Ranvier mit Fettzellen, welche das Mark - ähnlich wie die Fettzelle das Fett - in ihrem Zytoplasma ablagert (1872a). Der äußere Zytoplasmasaum der Schwann-Zelle (bisher Schwannsche Scheide) schlägt im Bereich der Schnürringe nach innen um und setzt sich rückläufig zwischen Mark und Axon fort. Ranvier schrieb der Markscheide die Rolle einer nicht permeablen, isolierenden und schützenden Hülle zu und sah in den Schnürringen die einzige Stelle für eine Passage von Ernährungsstoffen zum Axon. Die Gültigkeit der Ranvier'schen Interpretation der Nervenfasern wurde in den folgenden Jahrzehnten bestätigt und die Erkenntnisse der Histologie der Nervenfaser, sowie ihre Quantifizierung vertieft, was der Leser den rückblickenden Arbeiten der folgenden Autoren entnehmen mag (Stöhr jr., 1928; Lehmann, 1959; Causey, 1960; Elfvin, 1968; Peters und Vaughn, 1970; Landon und Hall, 1976). Zur Histologie der Neuroglia des Zentralnervensystems sei auf die Arbeiten von Bunge (1968) sowie Glees und Meller (1968) verwiesen.

Da sich die vorliegende Arbeit auf Zellmembranen und Zellkontakte konzentriert, sei an dieser Stelle ein Rückblick auf die Aufklärung der Ultrastruktur der Markscheide - genauer des Myelins - erlaubt, wodurch unser Verständnis der Histologie der Schwann-Zelle erst ermöglicht wurde.

4.3.2. Myelin

Virchow prägte 1854 den Begriff "Myelin" für den sogenannten Markstoff, von dem er annahm, daß es sich wahrscheinlich um eine zusammengesetzte fetthaltige Verbindung handelte. Dieser homogen erscheinende Stoff konnte jedoch auch aus anderen Geweben als den Nerven mit heißem Alkohol isoliert werden. Um die Mitte des 19. Jahrhunderts wurden die doppelbrechenden Eigenschaften der Markscheide im polarisierten Licht von Valentin (1861) und von Klebs (1865) erkannt. 1890 berichtete Ambronn, daß in der Markscheide "radiär , aber untereinander gleichsinnig gelagerte Lecithinkörper" für eine Doppelbrechung der Markscheide - mit negativem Vorzeichen in bezug auf die Faserachse - verantwortlich sind. Diese Doppelbrechung geht nach Behandlung mit fettlösenden Substanzen wie Alkohol verloren, und es kommt zu einer Doppelbrechung mit positivem Vorzeichen, welche er auf die "Markscheidengrundsubstanz" zurückführte.

Göthlin (1913) unterschied aufgrund von Doppelbrechungsanalysen lipotrope, metatrope und proteotrope Fasern. W.J. Schmidt (1937) faßte die Ergebnisse dieser Voruntersuchung mit denen seiner eigenen Studien (1924; 1936) zu einem im Grundsatz heute noch gültigen Modell der Markscheide zusammen: Danach besteht die Markscheide aus sich abwechselnden konzentrischen Lipid- und Proteinschichten. Dabei sind die Lipidmoleküle radiär und die Eiweißmoleküle tangential angeordnet.

Der Aufbau der Markscheide aus konzentrischen "submikroskopischen Lamellen", wie ihn W.J. Schmidt vorschlug, wurde etwa gleichzeitig von F.O. Schmitt und seinen Mitarbeitern in Doppelbrechungsanalysen und Röntgenbeugungsmessungen bestätigt (Schmitt und Bear, 1937; Schmitt et al., 1941; Schmitt, 1950). Nach der Vorstellung dieser Gruppe liegen die radiär orientierten Lipide als bimolekulare Schicht mit einander zugewandten

hydrophoben Anteilen vor. Die hydrophilen, polaren Außenseiten dieser bimolekularen Lipidschichten stehen in engem Zusammenhang mit anliegenden dünnen Proteinschichten; letztere bestehen möglicherweise aus globulären Proteinpartikeln.

Die Dicke einer sich wiederholenden Periode (Identitätsperiode) aus zwei Lipiddoppelschichten mit anliegenden Proteinschichten ist in Röntgenbeugungsmessungen errechenbar und wurde von Schmitt et al. (1941) mit ca. 180 Å angegeben. Dieser Wert wurde später an peripheren Nerven von Säugern bestätigt (ca. 184 Å Ratte, Katze), ist jedoch am peripheren Froschnerven kleiner (171 Å) (Finean, 1961).

Gegen Ende der vierziger Jahre wurde der lamelläre Aufbau der Markscheide auch elektronenmikroskopisch - zunächst an Myelinfragmenten - gezeigt (Fernández-Morán, 1950a; Sjöstrand, 1950; Fernández-Morán, 1952). Fernández-Morán (1950b) beschrieb an osmiumfixierten, gefrierge-schnittenen Markscheiden eine "deutlich konzentrisch angeordnete feine Schichtenstruktur in der ganzen Markscheide". Sjöstrand (1953) erreichte an Ultradünnschnitten von Metacrylat eingebettetem, osmiumfixierten Myelin des Nervus ischiadicus der Maus die Darstellung eines Systems konzentrischer Lamellen (Linien). Hierbei läßt sich eine Hauptlamelle von einer dünnen Zwischenlamelle unterscheiden. Den mittleren Abstand der Hauptlamellen gab er mit 120 Å an, die ca. 95 Å breiten hellen Räume zwischen den Hauptlamellen werden durch feine Zwischenlamellen halbiert.

Das Zustandekommen dieser Haupt- und Zwischenlamellen, sowie ihre Beziehung zur Schwann-Zelle ist erst vor dem Hintergrund der Untersuchungen von Geren (1954) und Robertson (1955) zu verstehen. Geren konnte am sich entwickelnden Ischiasnerven des Hühnerembryo zeigen, daß die Markscheide aus einer spiralig gewickelten Schwann-

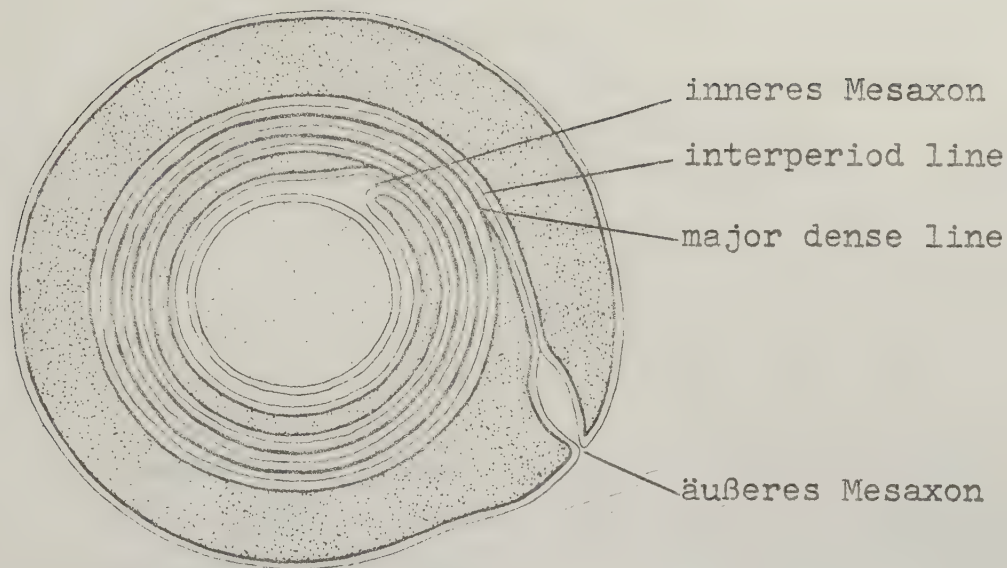


Abbildung 4

Skizze einer Markscheide, nachgezeichnet nach Robertson, 1955.

Robertson demonstrierte, daß die Markscheide aus einer spiraligen Wicklung einer Schwann-Zell-Doppelmembran besteht. Die von Geren (1954) gefundene spiralig um das Axon herumgewickelte Schwann-Zellzunge verliert ihr Zytoplasma und wird zu einer "kompakten" Doppelmembran. Durch Aneinanderlagerung der dem Zytoplasma zugewandten Membranflächen entsteht die "major dense line"; die aneinanderliegenden externen Membranflächen bilden die "interperiod line". Diese interperiod line nimmt ihren Ursprung am äußeren Mesaxon und endet am inneren Mesaxon. Bereits Robertson beobachtete eine punktförmige Verschmelzung der Membranen des äußeren Mesaxon.

Zellzunge hervorgeht. Diese zunächst noch zytoplasmahaltige Schwann-Zellzunge verliert im Verlauf der Markscheidenwicklungen ihr Zytoplasma (Robertson, 1955; 1957; 1958a). Hierbei legen sich die beiden Einzelmembranen der Zunge zu einer Doppelmembran zusammen, die ebenfalls spiralig gewickelt ist (siehe hierzu Abb. 4 nach Befunden von Robertson). Diese Zellmembranen erscheinen nach Kaliumpermanganatfixierung im Elektronenmikroskop als zwei parallel laufende, ca. 25 Å breite, elektronendichte Linien, die durch eine ca. 25-35 Å breite helle Linie voneinander getrennt werden (Robertson, 1957). Robertson prägte für diese trilaminäre Schichtung den Begriff "unit membrane". Beim Prozeß des Kompaktwerdens der Markscheide findet die Aneinanderlagerung der zytoplasmazugewandten Membranflächen statt. Dadurch entsteht die dicke Hauptlinie, die im angelsächsischen Schrifttum "major dense line" genannt wird und von Robertson als "internal compound membrane" eingeführt wurde. Die dünne Nebenlinie oder "interperiod line" entsteht durch die Aneinanderlegung der äußeren Flächen der Einheitsmembranen, weshalb Robertson sie als "external compound membrane" bezeichnete (Robertson, 1958b).

Robertson (1958b) zeigte ferner, daß die von Finean und Millington (1957) beschriebene Schwellung der Markscheide in hypotonen Lösungen mit einer Spaltung entlang der interperiod line einhergeht. Diese interperiod line erscheint bei geeigneter Präparation als 2 bis 3 Nanometer breite Doppellinie (Elfvin, 1961b; Napolitano, und Scallen, 1969; Peters und Vaughn, 1970; Peterson und Pease, 1972). Dies weist auf einen Spaltraum zwischen den Myelinwicklungen hin, der einem intramyelinären Extrazellularraum entspricht und in Traceruntersuchungen darzustellen ist (Revel und Hamilton, 1969). Dieser Spaltraum erscheint, je nach Präparationsmethode,

mehr oder weniger deutlich. Ebenso sind die Abstände der Hauptlinien zueinander nicht nur spezieabhängig, sondern sie werden wesentlich durch die Präparation beeinflusst. Fernández-Morán und Finean (1957) konnten in Röntgenbrechungsstudien zeigen, daß die im frischen Froschischiadicus gefundene Identitätsperiode von 171 Å durch die Fixierung und Entwässerung für die Elektronenmikroskopie auf 120 Å zusammenschrumpfte, was dem im Elektronenmikroskop gemessenen Wert gut entspricht.

Diese Röntgenbeugungsanalysen lieferten ein wichtiges methodisches Bindeglied zwischen Transmissionselektronenmikroskopie einerseits und chemischer Analyse andererseits (Finean, 1961). Sie gestatteten die Messung der Identitätsperioden der Markscheide unter Variation der experimentellen Bedingungen wie Trocknung, Einfrierung, Fixierung, Entwässerung, Einwirkung hypotoner und hypertoner Lösungen, Einbettung, etc., um nur einige zu nennen (Elkes und Finean, 1953a; 1953b; Finean, 1953; 1954; Fernández-Morán und Finean, 1957; Finean und Millington, 1957; Joy und Finean, 1963; Worthington und Blaurock, 1969; Kirschner und Caspar, 1975). Weiterhin erlaubte die Transformation der Röntgenbeugungsmessungen nach den physikalischen Gesetzen der Fourier-Transformation und Patterson-Funktion die Bestimmung der Elektronendichte am frischen Myelinmembransystem.

Caspar und Kirschner (1971), sowie Blaurock (1971; 1976) bestätigten in den Grundzügen die Elektronendichteprofile von Finean und Burge (1963) und bekräftigten die hierin vorherrschende Vorstellung, daß die bimolekulare Cholestrin-Lipidschicht die strukturelle Grundlage der Myelinmembran darstellt (siehe auch Vandenheuvel, 1965). Die wenig elektronendichten Zonen, die als ca. 40 Å breite Täler in den Dichteprofilen

erscheinen, werden den überwiegend gestreckt angeordneten, einander zugewandten, apolaren Anteilen der Kohlenwasserstoffketten der bimolekularen Lipidschicht zugeordnet. Hier finden sich die gleichen Elektronendichten wie in Referenzmessungen bekannter Kohlenwasserstoffketten (Luzzati, 1974). Beiderseits dieser Täler der Dichteprofile finden sich Gipfel, die über das Tal hinweg einen Abstand von 50 Å zueinander aufweisen, und die den polaren Gruppen der Lipide, sowie auch Proteinen zugeordnet werden. Ihre Dichte stimmt ebenfalls mit der von Referenzsubstanzen überein (Blaurock, 1973). Diese Interpretation der einzelnen Myelinmembran steht mit den Neutronendichte- und Elektronendichtekurven an künstlichen Lipiddoppelschichten (Levine und Wilkins, 1971; Ranck et al., 1974; Schoenborn, 1976) sowie mit den derzeit gültigen Membranmodellen (Wilkins et al., 1971; Singer und Nicolson, 1972) in Einklang.

Caspar und Kirschner (1971) fanden in Hochauflösungsdichteprofilen eine Asymmetrie der äußeren und inneren Anteile der Lipiddoppelschicht, die sie auf einen höheren Gehalt an Cholesterin in den äußeren Membrananteilen zurückführten. Die molekulare Proteinverteilung ließ sich in kombinierten Röntgenbeugungs- und Neutronenbeugungsstudien näher beleuchten, wobei sich zeigte, daß ein großer Teil außerhalb der Lipiddoppelschichten zu liegen scheint. In der wässrigen Zone der Hauptlinie wird das sogenannte "Basische Protein" vermutet. Ein anderer Teil des Proteins liegt vermutlich teils in der apolaren, teils in der polaren Zone der Lipiddoppelschichten und dürfte in den Spaltraum der interperiod line hineinragen. Zu den letzteren zählen wahrscheinlich die bekannten Proteolipidproteine und Glycoproteine (Zur Struktur und Chemie des Myelins siehe die Übersichtsreferate von: Mokrasch, Bear und

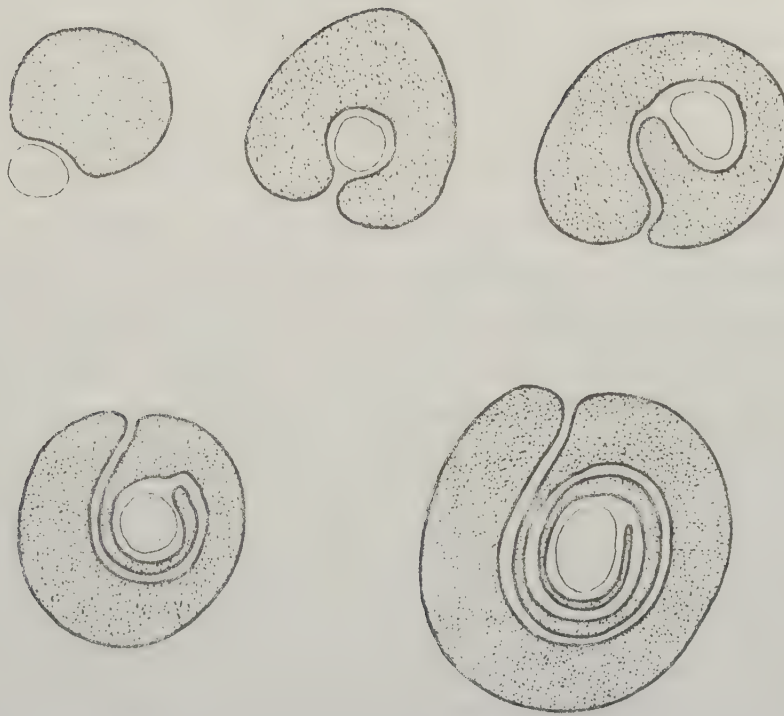


Abbildung 5

Geren demonstrierte als erste, daß die Markscheide aus einer spiralförmigen Wicklung der Schwann-Zelle um das Axon hervorgeht. Nachgezeichnet nach Geren, 1954.

Schmitt, 1972; Gregson, 1976; Braun, 1977; Braun und Brostoff, 1977; Kirschner und Caspar, 1977; Norton, 1977; Raine, 1977; Rumsby und Crang, 1977).

4.3.3. Myelogenese

Wie bereits im vorausgehenden Abschnitt zur Struktur des Myelin erwähnt, geht unser heutiges Verständnis der Markscheide im wesentlichen auf die Arbeiten zur Myelogenese von Betty Geren (1954) zurück. Nach ihren Befunden legt sich die Schwann-Zelle um das Axon herum, und es erscheint im Querschnitt an der Stelle, wo die Schwann-Zellzungen aufeinandertreffen, ein Membranenpaar aus zwei Schwann-Zellmembranen. Dieses Paar stellt - gleichsam wie ein "Meso" - die Verbindung von äußerer Schwann-Zellplasmamembran zu der dem Axon anliegenden Schwann-Zellplasmamembran dar und wird seither nach Gasser "Mesaxon" genannt (1952). Eine derartige Formation fand Gasser zuerst an unmyelinisierten Fasern. Geren beschrieb die weitere Myelogenese als eine spiralige Verlängerung dieses Mesaxons. Dies soll nach ihrer Vorstellung durch eine kontinuierliche Einstülpung weiterer Schwann-Zellmembrananteile am Ursprung des äußeren Mesaxons geschehen (siehe Abb. 5). Robertson (1955) demonstrierte auch im kompakten Myelin eine Membranspirale - genauer Doppelmembranspirale. Diese steht über das Membranenpaar des sogenannten "äußeren Mesaxon" mit der äußeren Schwann-Zellmembran und über das "innere Mesaxon" mit der dem Axon anliegenden Schwann-Zellmembran in Verbindung. Robertson bezeichnete daher die Mesaxone als "outer" und "inner connecting membrane".

Der Aufbau aus spiraligen Doppelmembranwicklungen wurde einige Jahre später auch für das Myelin des Zentralnervensystems bestätigt (Fernández-Morán und Finean, 1957; Maturana, 1960; Peters, 1960a; 1960b;

Bunge et al., 1961). Der Mechanismus der Spiralisierung ist jedoch bis heute unklar geblieben.

Geren (1954) und Robertson (1955) diskutieren im peripheren Myelin den Spiralisierungsprozeß entweder als eine Rotation des inneren Mesaxons (d.h. der inneren Schwann-Zellzunge), des äußeren Mesaxons oder gar des Axons.

Eine Rotation des Axons erscheint unwahrscheinlich, da aufeinander folgende Markscheiden eines Axons durchaus gegenseitig gewickelt sein können (Cravioto, 1965). So besteht zumindest soweit Einigkeit, daß die Schwann-Zelle oder zumindest Teile von ihr sich um das Axon herumbewegen. Sjöstrand (1963) sah den Bereich der äußeren Zunge als eine aktive Wachstumszone an. Nach seiner Auffassung schiebt sich die äußere Schwann-Zellzunge über die Schwann-Zellaußenmembran hinweg. Elfvin (1968) schloß sich diesem Modell an und bekräftigte die Existenz eines "aktiven" Zytoplasmas mit vielen Ribosomen und Mitochondrien im Bereich der äußeren Zunge.

Ein derartiges Modell würde die Rotation des gesamten Schwann-Zellzytoplasmas samt Kern verlangen, da diese regelmäßig in der äußersten Wicklung anzutreffen sind. Rotationsbewegungen - genauer Umkreisungen des Kernes - um die Markscheide herum wurden von einigen Autoren in vitro berichtet (Murray, 1964), von Speidel in vivo jedoch nicht bestätigt (1964).

Dieses Modell würde außerdem einen unterschiedlichen Wicklungsmechanismus für die Markscheide der Schwann-Zelle und für die Markscheide der Oligodendrogliazelle fordern, da der Zellkörper der Oligodendrogliazelle über Zytoplasmabrücken mit mehreren Markscheiden verbunden ist und nicht gleichzeitig um mehrere Axone rotieren kann (Bunge, 1968; Hirano und Dembitzer, 1967).

Da sich die Markscheidenbildung nur als dreidimensionaler Prozeß verstehen läßt und dieser Aspekt in den bisherigen Untersuchungen nicht genügend berücksichtigt schien, unternahm Webster (1971) Serienschnittrekonstruktionen von myelinisierenden Fasern peripherer Nerven. Webster beschrieb bei der Bildung der ersten Wicklungen auffallende Unregelmäßigkeiten der Schwann-Zellzungen, wie die Bildung mehrerer, auch gegenläufiger Zungen. Nachdem die Anzahl der Wicklungen ein halbes Dutzend erreicht hat, gehen diese Unregelmäßigkeiten mehr und mehr zurück. Es finden sich in diesem Stadium bereits erste Übergänge in kompakte Myelinlamellen. Die Lage der äußeren Schwann-Zellzunge verbleibt in Serienschnitten meist im gleichen Bildquadranten während die Lage der inneren Zunge variiert. Webster führte daher die Bildung der ersten Wicklungen auf eine freie Verlängerung der inneren noch zytoplasmatischen Schwann-Zellzunge zurück. In den fortgeschrittenen Stadien kommt es nach Webster zu einem "Schiften" der äußeren Zunge in entgegengesetzter Richtung, wodurch die Anzahl der Wicklungen weiter erhöht wird. Wie dieses geschieht, bleibt allerdings noch "poorly understood" (Webster, 1971). Für eine freie Verlängerung der inneren Zunge sprachen sich auch Blechschmidt und Mitarbeiter aus (Blechschmidt et al., 1970). Friede schlug 1972 vor, daß für die Bildung der Schwann-Zellwicklungen das Axonwachstum mitverantwortlich sei, da er in Vorarbeiten (Friede und Samorajski, 1968) ein konstantes Verhältnis der Anzahl der Wicklungen zum Axonkaliber bereits während der Myelogenese fand. In diesem Modell postulierte er eine Verlängerung der inneren Zytoplasmalippe des äußeren Mesaxons, welche in den äußeren Anfang der "main period line" übergeht. Dies soll als Reaktion auf eine Zunahme des Axondurchmessers statt-

finden. In einer zweiten Phase kommt es zu einer Kompaktisierung dieser Lippe, was zu einer Verlängerung um ein Mehrfaches führt. Dieses Modell setzt ein dynamisches Gleiten der Myelinlamellen übereinander voraus, was seit den Untersuchungen von Hirano und Dembitzer (1967), sowie Friede und Miyagishi (1972) durchaus möglich erscheint.

4.3.4. Wallersche Degeneration und nachfolgende Regeneration

Während Cruikshank bereits 1776 die Wiedervereinigung durchtrennter peripherer Nerven beobachtete (veröffentlicht 1795), fand Haighton 1795 auch eine funktionelle Restitution nach Nervendurchschneidung. Etwa ein halbes Jahrhundert später lieferten Nasse (1839), sowie Guenther und Schoen (1840) histologische Befunde zur Degeneration, die Nasse (1839) als Zerfall der Nervenrohre in "rosenkranzartig aneinandergereihte Fetttröpfchen" im durchschnittenen Nerven beschrieb. Vor diesem Hintergrund formulierte Waller (1850, 1852) das heute noch gültige Konzept der sekundären Degeneration nach einer Kontinuitätstrennung des Axons, das bis heute mit seinem Namen verbunden geblieben ist. Der distale Stumpf eines durchschnittenen Nerven degeneriert. Achsenzyylinder und Markscheide zerfallen hier zu Markballen. Letztere werden mehr und mehr zu kleinen Kügelchen reduziert, die perlschnurartig innerhalb der "Nervenhüllen" liegen. Die Regeneration geschieht durch Neuauswachsen von Nervenfasern von den zentralen Stümpfen ausgehend in die peripheren Nervenanteile hinein. Sie werden anschließend mit neuen Markscheiden versehen.

Der Zerfall der Markscheiden setzt mit einer Verbreiterung der Ranvierschen Schnürringe ein, was bereits Ranvier (1878) bemerkte und nach ihm von zahlreichen Autoren bestätigt wurde (u.a. Ramon y Cajal, 1928;

Causey und Palmer, 1953; Ballin und Thomas, 1969). Williams und Hall (1971a) registrierten diese Retraktion der Markscheide von den Schnürringen in vivo bereits nach wenigen Minuten. Mit der Schnürringverbreiterung geht ein deutliches Hervortreten der Schmidt-Lantermanschen Inzisuren einher (von Büngner, 1891; Ramon y Cajal, 1928; Peterson und Murray, 1965; Webster, 1965; Williams und Hall, 1971a). Bereits von Büngner (1891) schilderte treffend, daß der Zerfall der Markscheiden als Reaktion auf eine Axonschrumpfung beginnt, bei der die Schmidt-Lantermanschen Inzisuren sichtbar werden, hier die Axone abschnittsweise zerreißen und die Markränder über den Enden derselben zusammenfließen. Williams und Hall (1971b) bestätigten dies in vivo und sahen eine weitere Segmentation dieser primären, länglichen Ellipsoide im Bereich noch vorhandener Inzisuren zu kleineren Markballen, von denen sich noch kleinere Myelinkügelchen abschnüren. Ramon y Cajal (1928) gab den Ellipsoiden den Namen "Verdauungskammern" und machte für den weiteren Abbau des Myelins einwandernde Leukozyten aus dem Blut verantwortlich. Dagegen beschrieben Weiss und Wang (1945) die Transformation von Schwann-Zellen in Makrophagen. Elektronenmikroskopisch wurde von zahlreichen Autoren bestätigt, daß im Anfangsstadium der Wallerschen Degeneration die Schwann-Zelle den Abbau ihres Myelins vornimmt, und daß nach einigen Tagen Makrophagen sie in dieser Funktion unterstützen (Terry und Harkin, 1957; Ohmi, 1961; Thomas, 1970; O'Daly und Imaeda, 1967; Williams und Hall, 1971b; Thomas, 1974; De la Motte et al., 1975). O'Daly und Imaeda sowie Williams und Hall fanden eine Abgabe von Myelindebris an Makrophagen, welche im endoneuralen Raum, hier insbesondere perivaskulär, noch längere Zeit mit Debris beladen anzutreffen sind.

Andererseits sprachen sich zahlreiche Autoren gegen eine wesentliche exogene Makrophagenaktivität aus und schrieben der Schwann-Zelle eine Hauptrolle am Myelinabbau zu (Wechsler und Hager, 1961; Fisher und Turano, 1963; Nathaniel und Pease, 1963a; Satinsky et al., 1964; Blümcke und Niedorf, 1966; Morris et al., 1972; Weinberg und Spencer, 1978).

Am Vorkommen hämatogener Makrophagen in der Läsionsstelle besteht kein Zweifel, jedoch ist unklar, in welchem Ausmaß hämatogene Zellen im distalen Stumpf (Olsson und Sjöstrand, 1969) am Myelinabbau beteiligt sind. Neuere Markierungsuntersuchungen sprechen gegen einen wesentlichen hämatogenen Ursprung der phagozytierenden Zellen und für ein hauptsächlich endogenes Abstammen dieser aus dem distalen Nervenabschnitt selbst (Berner et al., 1973; Liu, 1974). Die genauere Herkunft ist jedoch kontrovers. Es erscheint in diesem Zusammenhang interessant, daß in isolierten Schwann-Zell-Ganglien-Kulturen die Schwann-Zelle selbst den Abbau des eigenen Myelins vornimmt (Peterson und Murray, 1965; Salzer und Bunge, 1980). Außerdem zeigen sich isolierte Schwann-Zellen zur Phagozytose von Neuritenmembranmaterial befähigt (Salzer et al., 1980).

Die Hauptrolle der Schwann-Zelle selbst am Myelinabbau während der Wallerschen Degeneration ist also hochwahrscheinlich, zumal sich oft Myelinabbau und erneute Markscheidenbildung in einer Zelle nebeneinander beobachten lassen. Dieser Funktion entspricht die Steigerung lysosomaler Enzymaktivitäten der Schwann-Zellen (u.a. Holtzman und Novikoff, 1965).

Parallel mit dem Abbau der Markballen zu lamellären Körpern und Phagolysosomen findet eine Proliferation der Schwann-Zellen statt, die von v. Büngner (1891) auf echte mitotische Kernteilungen zurückgeführt und

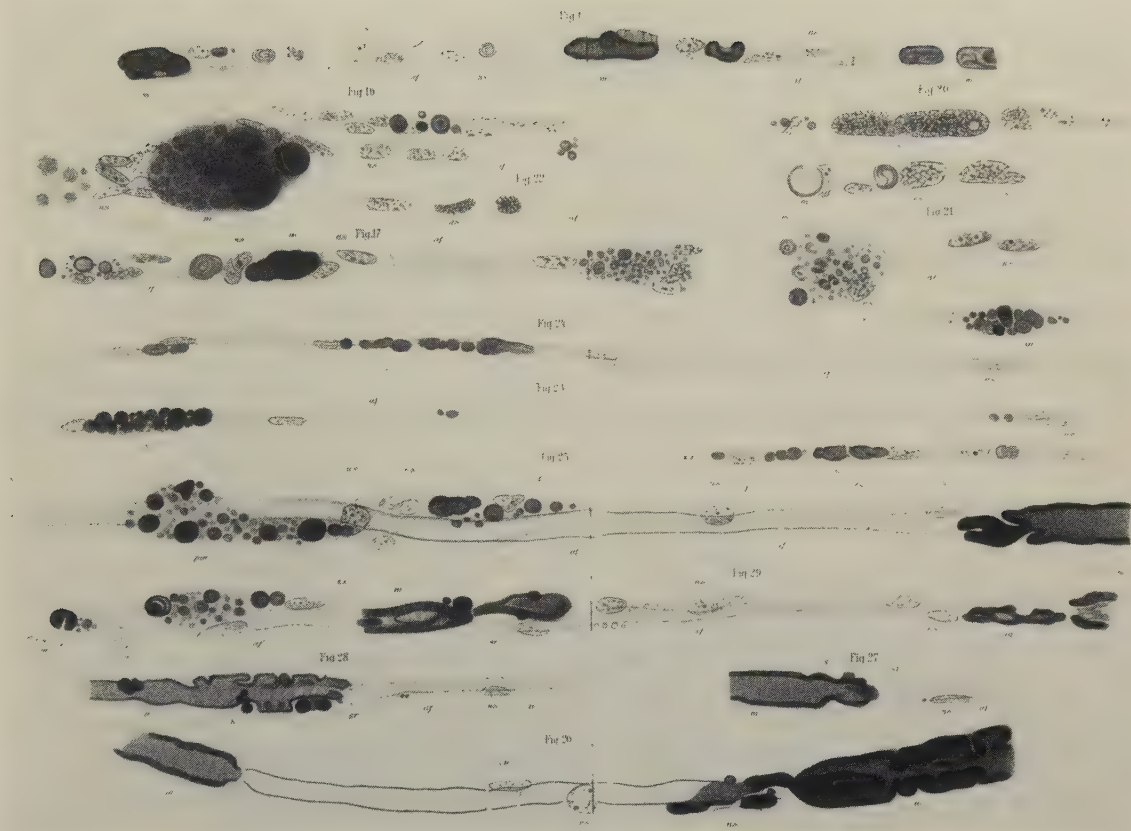


Abbildung 6

Degenerierende Nervenfasern des distalen Nerven-
stumpfes, wie sie von Büngner 1893 veröffentlichte.

als Multiplikation der Kerne im distalen Stumpf bereits von Ranvier (1872b) beschrieben wurde. Quantifizierungen der Schwann-Zellproliferation ergaben Steigerungen der Schwann-Zellzahlen auf über das Zehnfache in myelinisierten Fasern (Abercrombie und Johnson, 1946). Gegenüber myelinisierten Fasern ist die Proliferation der Schwann-Zellen in unmyelinisierten Fasern deutlich geringer (Joseph, 1947; 1948; Thomas, 1948; Romine et al., 1976).

Wie in vitro Experimente jüngst zeigten, hängt diese Proliferation, sowohl vom Vorhandensein von Myelin, wie auch von einer axonalen Membrankomponente ab (Salzer und Bunge, 1980; Salzer et al., 1980; Salzer, Bunge und Glaser, 1980). Die maximale Proliferationsrate ermittelten Bradley und Asbury im Ischiasnerven der Maus bereits um den 4. Tag der Degeneration (1970).

Von Büngner beschrieb die nach ihm benannten Schwann-Zellbänder als langgestreckte Protoplasmazüge mit Kernen, die sich nebeneinander durch die alten Primitiv-scheiden (heute Endoneuralscheiden) schlängeln (1891) (Abb. 6). Diese Zellbänder wurden von vielen Autoren als Schwann-Zellsynzytien angesehen (u.a. Boeke, 1930; Nageotte, 1932). Young beschrieb sie treffend als separate, langgestreckte, faserartige Zellen, die sich oft einander überlappen. Das wurde in späteren elektronenmikroskopischen Arbeiten bestätigt (z.B. Ohmi, 1961; Nathaniel und Pease, 1963b). Die Unterscheidung dieser elongierten, einander überlappenden Schwann-Zellfortsätze von Axonen kann selbst im Elektronenmikroskop Schwierigkeiten bereiten (Dyck und Hopkins, 1972). Diese Tatsache führte zu jahrzehntelanger Verwirrung, da man eine autogene, d.h. von der Nervenzelle unabhängige Neubildung von Nervenfasern in den Schwann-Zellbändern zu sehen glaubte (u.a. Eichhorst, 1874;



Abbildung 7

Tafel aus dem Werk von Ramon y Cajal zur Degeneration und Regeneration des Nervensystems (1928). Axonsprossen nehmen ihren Ursprung von den proximalen Axonstümpfen und wachsen in die degenerierten distalen Nervenstümpfe ein.

Neumann, 1880; von Büngner, 1891; Bethe, 1903).

Die heute erwiesene zentrogenetische Lehre dagegen, nach der die Nervenfasern vom zentralen Stumpf wieder auswachsen und dieser Prozeß an die trophische Funktion der Nervenzelle geknüpft ist, wurde nach Waller (1850; 1852) insbesondere von Ranvier (1873) vertreten. Histologische Beweise für die zentrogenetische Regeneration lieferten die Achsenzylinderfärbungen Stroebe's (1893) mit Anilinfarbstoffen, sowie die Silberimprägnationen von Perroncito (1907) und Ramon y Cajal (1908; 1928). Ramon y Cajal entwickelte die von Golgi entdeckte Silberimprägnationsmethode in zahlreichen entscheidenden Modifikationen weiter und faßte seine Ergebnisse der Jahre 1905 bis 1928 zur Degeneration und Regeneration des Nervensystems in seiner Monographie (1928) zusammen, der der Leser nicht nur eine Übersicht der älteren Literatur entnehmen mag.

Ramon y Cajal demonstrierte, daß die durchschnittenen Axone am zentralen Stumpf terminale Anschwellungen bilden (siehe auch Ranvier und Stroebe), die allerdings nur kurzzeitig zu beobachten sind. Von diesen gehen als "terminal axonic neoformation", ebenso wie aus weiter proximal gelegenen Axonstumpfabschnitten als "collateral axonic neoformation" die neu aus-sprossenden Nervenfasern aus, die in ihren Enden terminale Verdickungen im Sinne der Wachstumskolben embryonaler Fasern aufweisen (siehe auch die beige-fügte Abb. 7 aus Werken Ramon y Cajals). Diese Axon-sprossen sind bereits nach 6 bis 12 Stunden nachweis-bar und wachsen frei in das Narbengewebe zwischen proximalem und distalem Stumpf ein. Hier folgen die Fasern den unterschiedlichsten Zellkonturen, bilden Verzweigungen, teilweise gar umkehrende Schleifen

oder bleiben auch liegen. Da dennoch ein großer Teil den distalen Stumpf erreicht, vermutete Ramon y Cajal hier chemotaktische Einflüsse, die von den Schwann-Zellbändern des distalen Stumpfes ausgehen. Er betrachtete dieses Modell, welches an die Theorien des "Neurotropismus" (Forssman, 1900) anknüpfte, als Arbeitshypothese zur Erklärung des Leitmechanismus der auswachsenden Nervenfasern, ohne allerdings die Bedeutung mechanischer Leitstrukturen zu verneinen, wie sie z. B. von Held (Leitzellen) sowie von Harrison und Lever (Stereotropismus) vertreten wurde (zitiert n. Cajal, 1928). Eine ausführliche Diskussion dieser Theorien kann den Werken von Ramon y Cajal und P. Weiss entnommen werden. Paul Weiss entwickelte in einer Serie von Experimenten (Weiss, 1934; 1945; Weiss und Taylor, 1944) das Konzept der "contact guidance". Er betrachtete hierbei die ultrastrukturelle Organisation und Ausrichtung sogenannter "micellarer Aggregate" als Grundlage eines rein mechanischen Leitmechanismus. Die Ausrichtung dieser Aggregate selbst läßt sich allerdings, sowohl durch chemische, mechanische, als auch elektrische Einflüsse erklären (Weiss, s.o.).

Wahrscheinlich spielen bei dieser "contact guidance" Membranspezialisierungen eine Rolle, sei es als Rezeptoren für chemische Gradienten des Milieus oder für fixe Moleküle in der Leitstruktur oder als temporäre, spezifische Zellkontakte, die einen interzellulären Informationsaustausch ermöglichen.

Eine besonders geeignete Leitstruktur stellen die zu Bändern angeordneten Schwann-Zellen dar (Cajal, 1928; Boeke, 1930; 1950; Nageotte, 1932), an denen die Axone entlangwachsen und durch welche sie anschließend remyelinisiert werden.

Die hier nicht angeschnittenen Phänomene und Probleme der Wallerschen Degeneration mag den folgenden Über-

sichtsreferaten entnommen werden: (Guth, 1956; Causey, 1960; Kreutzberg, 1972; Domonkos, 1972; Porcellati, 1972; Joseph, 1973; Grafstein und McQuarrie, 1978).

5. ERGEBNISSE

Im ersten Abschnitt dieser Arbeit wird die Entwicklung einer tight Junction Kontaktzone in den Membranen der Mesaxone und paranodalen Schleifen beschrieben, welche bereits frühzeitig in den Stadien der Myelogenese während der Bebrütungsperiode zu beobachten ist (Tetzlaff, 1978). Zum besseren Verständnis der nun folgenden Befundbeschreibung sei vorausgreifend auf die schematische Zusammenfassung der Befunde in Abb. 17a-c hingewiesen. Außerdem mag sich der Leser mit den möglichen Bruchverhältnissen in Membranen des äußeren Mesaxons vertraut machen, wie sie in Abb. 8 skizziert sind.

5.1. ENTWICKLUNG VON TIGHT JUNCTION KONTAKTEN WÄHREND DER MYELOGENESE

5.1.1. Prämyelinisierende Fasern

Die Bildung der Markscheiden setzt im Nervus ischiadicus des Hühnchens in dem von uns untersuchten Abschnitt des Oberschenkels um den 13. Tag der Bebrütung ein. Nach 12 Bebrütungstagen besteht der Nerv hauptsächlich noch aus unmyelinisierten Fasern. Im Gefrierbruch erscheinen parallel zueinander verlaufende Axone, die durch dünne Schwann-Zellamellen voneinander getrennt werden (Abb. 9a). In den am Axoplasma verbleibenden Membranbruchflächen, den sogenannten PF-Flächen, können irregulär verteilte Partikel von einer Größe zwischen 6 und 16 Nanometern ausgemacht werden. Die PF-Flächen der Membranen der Schwann-Zellamellen weisen deutlich weniger intramembranöse Partikel auf.

5.1.2. Auftreten von tight Junction Kontakten mit beginnender Myelinisierung

Mit beginnender Myelogenese findet eine Separation des zu myelinisierenden Axons statt, und es legen sich ein

Abbildung 8

Schematisierte Darstellung des äußeren Mesaxons, die die möglichen Bruchverhältnisse in diesem Membranenpaar veranschaulichen soll.

In der oberen Detailskizze sind die tight Junction Kontakte im Schnittbild als Membranverschmelzungen der Membranen des äußeren Mesaxons markiert. Diese Skizze lehnt sich an die Doppelstrangtheorie der tight Junction (Bullivant, 1976) an, weshalb in jeder Membran ein Strang angedeutet wurde.

Die untere Detailskizze zeigt, daß sowohl die äußere wie die innere Membran des äußeren Mesaxons aufgebrochen werden können. Es resultieren dann vier Bruchflächen: Die EF- und PF-Flächen der inneren und der äußeren Membran des Mesaxons. In der Regel erscheinen die tight Junction Kontakte als Partikelketten in den PF-Flächen und als Furchen in den komplementären EF-Flächen.

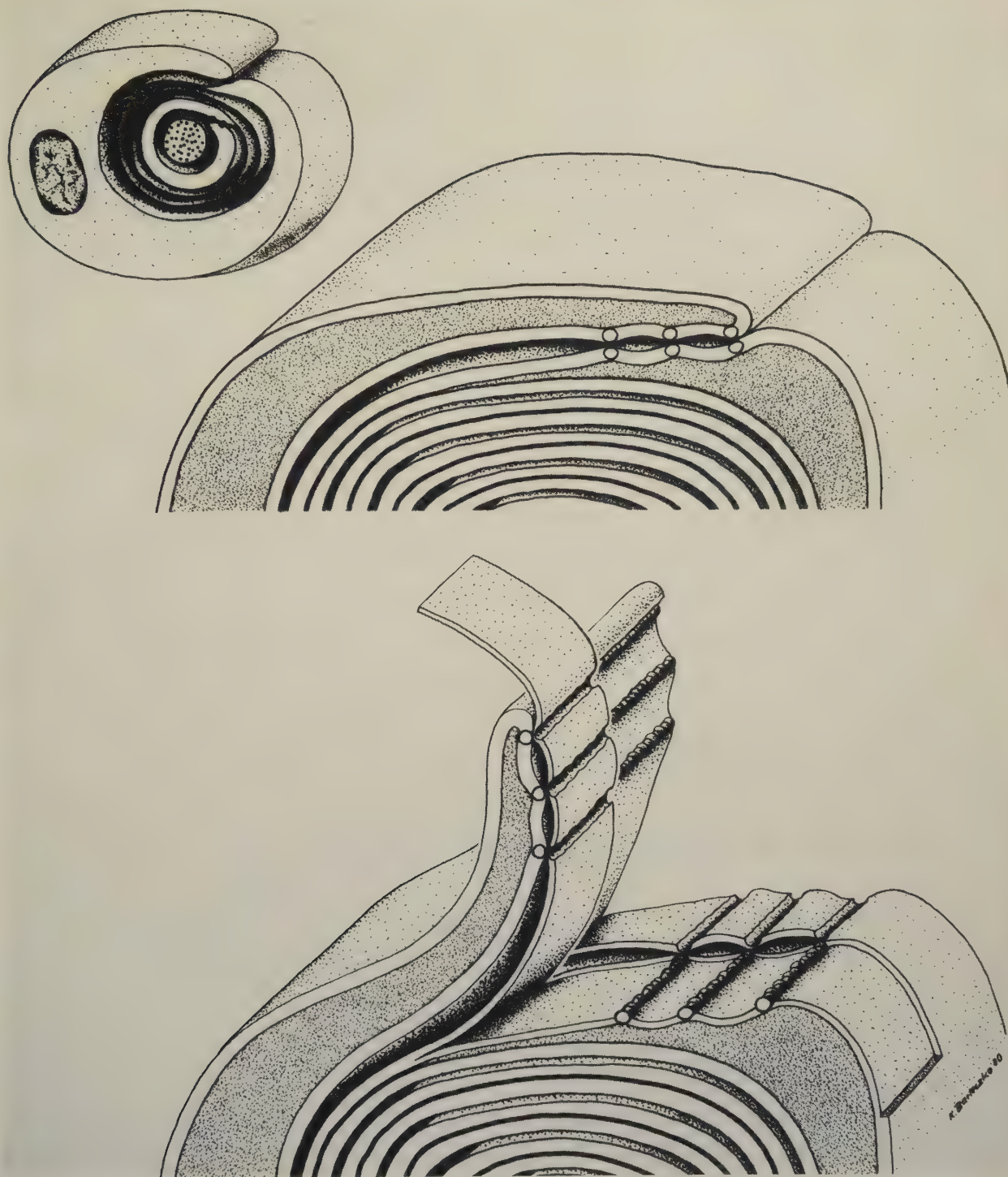


Abb. 8

bis drei zytoplasmatische Lamellen einer Schwann-Zelle um das Axon herum. Der Axondurchmesser beträgt zu diesem Zeitpunkt etwa 0,6 bis 0,8 Mikrometer. Im Gefrierbruch der Membranen der aneinanderliegenden Schwann-Zellamellen fallen kurze Partikelketten auf, die abschnittsweise zu kurzen, ca. 10 Nanometer breiten Leisten verschmolzen erscheinen (Abb. 9 b+c; Pfeile). Das Vorkommen von Furchen in den EF-Membranflächen (Abb. 9c; Pfeilköpfe) der Schwann-Zellamellen unterstützt die Identifizierung dieser Membranspezialisierungen als tight Junction Kontakte. Diese Furchen sind unscharf abgegrenzt und erscheinen nicht breiter als 5 Nanometer. Sie werden als die korrespondierende Struktur zu den Leisten angesehen (Staehein, 1974), was zur besseren Anschauung den Schemata zum Gefrierbruch von tight Junction Kontakten entnommen werden kann (Abb. 1 und 8). Diese ersten tight Junction Kontakte sind oft noch nicht in Faserrichtung angeordnet und ihre Zuordnung zu den Mesaxonen ist in vielen Fällen noch nicht möglich.

5.1.3. Tight Junction Spezialisierungen im äußeren Mesaxon

Die Lage der tight Junction Kontakte in den Membranen des äußeren Mesaxon wird erst in Fasern mit fortschreitender Myelogenese deutlich, welche aus drei bis sechs noch zytoplasmatischen Wicklungen um Axone von 0,8 bis 0,1 Mikrometer Durchmesser bestehen. Sie erscheinen hier ebenfalls als partikuläre Ketten, die abschnittsweise zu glatten Leisten fusioniert sind. Überwiegend verlaufen sie hier parallel zur Ausrichtung der Nervenfasern (Abb. 9d; Pfeil).

Die Lage der tight Junction Kontakte in den Membranen des äußeren Mesaxons kommt deutlich in den Abbildungen 10 a und d zum Ausdruck. Fasern dieses Entwicklungs-

Abbildung 9

Nervus ischiadicus, Hühnerembryo, 12 Tage (a, b, c) und 14 Tage (d) bebrütet, Gefrierätzung.

Abb. a:

Längsbruch eines Nerven, der im Stadium der Prämyelinisierung überwiegend noch aus etwa 0,6 Mikrometer dünnen Axonen besteht, welche durch Schwann-Zellamellen voneinander getrennt werden. Die Axonmembranen lassen deutlich mehr intramembranöse Partikel erkennen als die Schwann-Zellmembranen.

Abb. b, c und d:

Erste Stadien der Markscheidenbildung nach 12 und 14 Tagen der Bebrütung.

In den aneinanderliegenden Membranen der Schwann-Zellamellen, welche ein Axon mit zwei bis fünf Wicklungen umschließen, finden sich kurze, focale tight Junction Spezialisierungen. Diese erscheinen in den PF-Flächen als kleine Leisten, in denen sich abschnittsweise Einzelpartikel erkennen lassen (Pfeile). Diesem Bild der protoplasmatischen Membranbruchflächen entsprechen in den komplementären externen Membranbruchflächen (EF-Flächen) kurze Furchen, wie sie in Abb. 9c durch Pfeilköpfe markiert sind.

Vergrößerungen: a x 54000; b x 31500; c x 46500;
d x 32000;



Abb. 9

standes aus etwa 8 überwiegend noch zytoplasmatischen Schwann-Zellwicklungen um Axone von 1,0 bis 1,2 Mikrometer Durchmesser finden sich ab dem 14. Tag der Bebrütung. Während sich teilweise erst eine oder zwei tight Junction Ketten in den Membranen des äußeren Mesaxon ausmachen lassen (Abb. 10a), können in einigen Fasern dieser Größe drei und mehr nebeneinanderverlaufende tight Junction Elemente angetroffen werden (Abb. 10d). Ihr Verlauf orientiert sich am freien Rand der äußeren Schwann-Zellzunge. Typischerweise besteht die tight Junction Kontaktzone aus einzelnen isolierten Strängen von bis zu einigen Mikrometern Länge, die im Abstand von etwa 0,1 Mikrometer nebeneinander verlaufen. Diejenigen, die auf der zum extramyelinären Extrazellularraum zugewandten Seite - also unmittelbar am Rand der äußeren Zunge - verlaufen, nähern sich an ihren Enden benachbarten Strängen an (Abb. 10d; Doppelpfeil). Die Stränge auf der intramyelinären Seite der Kontaktzone enden häufig frei (Abb. 10d; Pfeile). Mit Ausnahme einzelner quer vernetzender tight Junctions kommen Vernetzungen oder Verschmelzungen der tight Junction Elemente in diesen Stadien noch relativ selten vor. Häufig finden sich in der Kontaktzone des äußeren Mesaxon noch einzelne tight Junction Ketten, die in Abständen von mehreren hundert Nanometern voneinander frei enden (Abb. 10 b und c). Es läßt sich also in diesem Stadium noch nicht von einer kontinuierlichen tight Junction Kontaktzone im Sinne einer Zonula occludens sprechen. Die kleinen Unterbrechungen innerhalb der Partikelketten (Abb. 10b; Pfeil) dürften daher rühren, daß hier Partikel beim Bruchvorgang herausgebrochen worden sind. Entsprechend weisen die EF-Flächen in ihren tight Junction Furchen bisweilen kleine Partikel auf (Abb. 11b). Folglich sehen wir diese kleinen Unterbrechungen der tight Junction

Abbildung 10

Nervus ischiadicus, Hühnerembryo, 14 Tage bebrütet, Gefrierätzung.

Entwicklungsstadien der tight Junction Kontaktzonen in den Membranen der äußeren Mesaxone.

In diesem Stadium der Myelogenese bestehen die Fasern aus etwa 8, überwiegend noch zytoplasmatischen Schwann-Zellwicklungen um Axone von 1,0 bis 1,2 Mikrometer Durchmesser. In Abb. a und d ist am oberen Bildrand die äußere Schwann-Zellzunge angebrochen und die darunter liegende PF-Fläche der inneren der beiden Membranen freigelegt, die das äußere Mesaxon bilden. Die tight Junction Kontakte durchziehen die Mesaxone, dem Rand der äußeren Zunge folgend. Einige Kontakte nähern sich an ihren Enden benachbarten Strängen an (Abb. b und c; sowie Abb. d, Pfeile).

Vergrößerungen: a x 52500; b x 45000; c x 40000;
d x 23200;



Abb. 10

Leisten nicht als Diskontinuitäten an, solange eine kleine Furche an ihrer Stelle erkennbar ist.

Mit weiterem Fortschreiten der Myelogenese finden sich in Markscheiden mit ca. zehn, teilweise bereits kompakten Myelinwicklungen um Axone von ca. 1,5 Mikrometer Durchmesser zunehmend längere tight Junction Elemente in den mesaxonalen Kontaktzonen. In einigen Gefrierbrüchen gelang eine Freilegung der Kontaktzone des äußeren Mesaxons für eine Strecke von mehr als 20 Mikrometern, in der einige tight Junction Ketten kontinuierlich zu verfolgen sind (Abb. 11b). Diese längsten tight Junction Ketten liegen stets auf der extramyelinären Seite der Kontaktzone (Abb. 11 b und c; Pfeile). Neben der Beobachtung immer längerer tight Junction Elemente ist eine Zunahme ihrer Anzahl zu verzeichnen, so daß bis zu 10 nebeneinander in Faserrichtung verlaufende Leisten bzw. Furchen im äußeren Mesaxon anzutreffen sind. Des öfteren lassen sich kurze, quer zur Faserrichtung verlaufende tight Junction Elemente zwischen den longitudinal verlaufenden ausmachen, die zunächst isoliert auftreten und durch Verlängerung Anschluß an die längs verlaufenden erhalten (Abb. 11a, Pfeile, und 11b). Einige von diesen Strängen verlassen die äußere mesaxonale Kontaktzone in intramyelinärer Richtung, d.h. sie folgen den spiraligen Wicklungen der Markscheide (Abb. 11b). Hochwahrscheinlich stellen sie die Anfänge der tight Junction Kontakte dar, die in den Schmidt-Lantermanschen Inzisuren gefunden werden. Fusionen dieser Stränge mit den longitudinal verlaufenden der äußeren mesaxonalen Kontaktzone (Abb. 11b), sowie Fusionen der nebeneinander verlaufenden Stränge (Abb. 11c und 12c), führen zu einer weitestgehend kontinuierlichen tight Junction Kontaktzone in den Membranen des äußeren Mesaxons. Dieses Bild einer Zonula occludens findet sich gegen Ende der Bebrütungsperiode

Abbildung 11

Nervus ischiadicus, Hühnerembryo, 14 (c) und 16 (a, b) Tage bebrütet, Gefrierätzung
Tight Junction Kontaktzonen in den Membranen der äußeren Mesaxone

Die hier längsgebrochenen Fasern bestehen aus etwa 10 teilweise bereits kompakten Myelinwicklungen um Axone von ca. 1,2 bis 1,5 Mikrometer Durchmesser. In Abb. a und c sind die PF-Flächen der inneren der beiden Membranen freigelegt, die das äußere Mesaxon bilden; in Abb. b ist es die EF-Fläche dieser Membran. Die Pfeile in den Abb. b und c markieren eine kontinuierliche tight Junction, die die extramyelinäre Seite der Kontaktzone begrenzt. Neben zahlreichen in Faserrichtung verlaufenden tight Junction Kontakten finden sich des öfteren quer zur Faserrichtung verlaufende tight Junction Elemente (Abb. a, Pfeile; Abb. b). Viele dieser Kontakte verschmelzen an ihren Enden mit den längsverlaufenden (Abb. b). Einige verlassen die Kontaktzone des äußeren Mesaxon in intramyelinärer Richtung und folgen den spiraligen Wicklungen der Markscheide. Letztere dürften den Anfängen der tight Junction Kontakte entsprechen, die in den Schmidt-Lantermanschen Inzisuren wiedergefunden werden. Die in Abb. c mit einem Pfeilkopf markierte Partikelanhäufung stellt eine Gap Junction dar, die in den Mesaxonen äußerst selten anzutreffen war.

Vergrößerungen: a x 23000; b x 21600; c x 50000;



Abb. 11

(16.-18. Tag) in den größten Markscheiden, die zu diesem Zeitpunkt aus 10-15 Myelinwicklungen um Axone von 1,5 bis 2,0 Mikrometer Durchmesser bestehen.

In äußerst seltenen Fällen sind in der mesaxonalen Kontaktzone Gap Junctions anzutreffen (Abb. 11c; Pfeilkopf). Diese bestehen aus nicht mehr als 50 Partikeln und liegen isoliert, das heißt, nicht an tight Junctions angelagert, wie es oft in epithelialen Schlußleisten zu beobachten ist.

In Fasern mit später einsetzender Myelogenese, die am 18. Tag noch aus 3 bis 5 Wicklungen um Axone von 0,6 bis 0,8 Mikrometer Durchmesser bestehen, konnten bereits bis zu 10 nebeneinander verlaufende tight Junction Kontakte im äußeren Mesaxon angetroffen werden (Abb. 12 a und b).

Angesichts der wechselnden Anzahl der tight Junction Stränge in den Membranen des äußeren Mesaxons derselben Faser läßt sich bei diesen nur kurzstreckig freigelegten Kontaktzonen nichts Näheres über die Ausprägung der übrigen Kontaktzone aussagen. Die tight Junction Bildung scheint jedoch in den später myelinisierenden Fasern etwas schneller in bezug auf die Markscheidenentwicklung abzulaufen.

Zur Zeit des Schlüpfens besitzen die größten Fasern etwa 25 kompakte Myelinwicklungen um Axone von 1,5 bis 2,0 Mikrometer Durchmesser. In ihrer Kontaktzone des äußeren Mesaxons sind oft nur noch 2 bis 4 nebeneinander verlaufende tight Junction Kontakte erkennbar, was auf eine leichte Abnahme der Anzahl der tight Junctions in diesen großen Fasern hinweist (Abb. 13). Hierauf wird später bei der Besprechung der myelinären tight Junctions in den Nerven der 3 bis 4 Wochen alten Hühnchen näher eingegangen.

Abbildung 12

Nervus ischiadicus, Hühnerembryo, 16 (a) und 18 (b, c) Tage bebrütet, Gefrierätzung

Abb. a:

Querbruch durch eine unreife Markscheide aus fünf zytoplasmatischen Schwann-Zellwicklungen um ein Axon (AX) von etwa 0,8 Mikrometer Durchmesser. Die EF-Membranbruchfläche der äußeren der beiden Membranen, die das äußere Mesaxon bilden, ist für ein kurzes Stück freigelegt und es lassen sich hier sechs nebeneinander verlaufende tight Junction Furchen ausmachen (markiert durch 6 Pfeile). Die Bildränder sind vom Zytoplasma der äußeren Schwann-Zellwicklung ausgefüllt.

Abb. b:

Schrägbruch durch eine unreife Markscheide aus zwei zytoplasmatischen Schwann-Zellwicklungen um ein Axon von ein Mikrometer Durchmesser. Die aneinanderliegenden Membranen der Schwann-Zellamellen werden von zehn parallel in Faserrichtung verlaufenden tight Junction Strängen durchzogen. Diese erscheinen in den PF-Bruchflächen als Leisten, die hier und da unterbrochen sind; in den freigelegten EF-Flächen weisen die tight Junction Furchen des öfteren einzelne Partikel auf.

Abb. c:

Längsbruch entlang der Membranen des äußeren Mesaxon einer Markscheide aus etwa zehn größtenteils kompakten Schwann-Zellwicklungen. Viele der tight Junction Stränge, die nebeneinander verlaufend das äußere Mesaxon durchziehen, nähern sich an ihren Enden benachbarten Strängen an und verschmelzen mit ihnen.

Vergrößerungen: a x 48000; b x 45000; c x 27000;

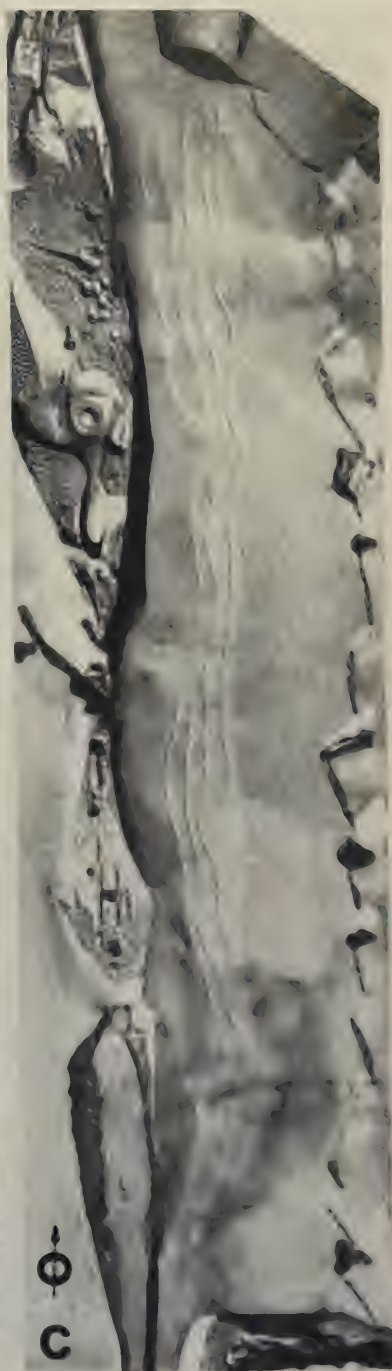


Abb. 12

Im folgenden soll die Entwicklung und Ausprägung der tight Junction Kontakte in den übrigen Bereichen der Markscheiden, also im inneren Mesaxon und zwischen den paranodalen Schleifen dargelegt werden.

5.1.4. Tight Junction Spezialisierungen in den Membranen des inneren Mesaxons

Da die Freilegung der Membranen des inneren Mesaxons oft nur in schräg durch die Nervenfasern verlaufenden Brüchen gelingt, muß sich die Beschreibung der tight Junction Kontakte hier auf relativ kurze Abschnitte von wenigen Mikrometern Länge beschränken. Die ersten tight Junction Kontakte können im inneren Mesaxon nach 14tägiger Bebrütung in Fasern ausgemacht werden, die aus etwa 5 bis 6 zytoplasmahaltigen Schwann-Zellwicklungen um Axone von 0,8 bis 1,0 Mikrometer Durchmesser bestehen (Abb. 14a, b und g). Oft findet sich in diesem Stadium nur eine einzige tight Junction Kette beziehungsweise Furche, die dem Verlauf des Randes der inneren Zunge folgt. In den Stadien der weiter fortgeschrittenen Myelogenese, die durch 8 bis 10 teilweise kompakte Schwann-Zellwicklungen um Axone von 1 bis 1,5 Mikrometer Durchmesser gekennzeichnet sind, hat die Zahl der tight Junction Stränge in den Membranen des inneren Mesaxons zugenommen. Dies ist demonstriert in den Abbildungen 14c in der EF-Fläche und in Abbildung 14e und 14f in der PF-Fläche der inneren der beiden Membranen, die das innere Mesaxon bilden. Fusionen der nebeneinander verlaufenden tight Junction Elemente werden ebenso selten beobachtet wie quer vernetzende tight Junctions. Ab und zu läßt sich eine frei endende tight Junction ausmachen (Abb. 14c und 14e).

Häufig bleiben in den kompakt werdenden Schwann-Zellwicklungen zytoplasmahaltige Einschlüsse in benachbarter Lage stehen, so daß zytoplasmahaltige Sektoren im Sinne von längs verlaufenden Inzisuren resultieren.

Abbildung 13

Nervus ischiadicus, Hühnerembryo, 20 Tage bebrütet,
Gefrierätzung

Schräg verlaufender Gefrierbruch durch eine Markscheide gegen Ende der Bebrütungsperiode

Das Axon ist am unteren Bildrand zu erkennen (AX).

Die Markscheide besteht aus ca. 25 bereits kompakten Myelinwicklungen; lediglich in den äußeren acht Wicklungen lassen sich längsverlaufende Zytoplasmaeinschlüsse erkennen, die häufig der äußeren Zunge benachbart sind, welche am oberen Bildrand angebrochen ist. Hier sind zwei nebeneinander verlaufende tight Junction Stränge in der PF-Fläche der inneren der beiden Membranen des äußeren Mesaxon freigelegt (Pfeile).

Vergrößerung: x 40000;



Abb. 13

Diese liegen oft in den Sektoren der äußeren oder inneren Schwann-Zellzunge, was aber keinesfalls die Regel ist, wie Dünnschnitte vom 14. und 16. Tag der Embryonalentwicklung zeigen. In den Membranen dieser Zytoplasmaeinschlüsse finden sich ebenfalls tight Junction Kontakte, welche in korrespondierender Anordnung zu denen der äußeren oder inneren Mesaxone auftreten können (Abb. 14d). In Querbrüchen der Markscheide erscheinen diese tight Junctions als punktförmige Verschmelzungen der Membranen benachbarter Zytoplasmaeinschlüsse (Abb. 14e; Pfeile).

Mit zunehmender Größe der Myelinscheide sind diese longitudinal verlaufenden Inzisuren weniger ausgeprägt und finden sich nur noch in einigen Wicklungen in benachbarter Lage zur äußeren oder inneren Schwann-Zellzunge. So weist die in Abb. 13 gezeigte Markscheide lediglich in den äußeren 7 Wicklungen Zytoplasmaeinschlüsse auf, welche in dem Sektor zuinnerst der äußeren Zunge liegen (am oberen Bildrand). In Fasern dieser Größe treten dafür die spiralig aufgewickelten Zytoplasmaeinschlüsse deutlicher hervor, welche als Schmidt-Lantermansche Einkerbungen bekannt sind. Sowohl die längs verlaufenden Zytoplasmainzisuren als auch die spiralig gewickelten weisen in ihren Membranen tight Junction Kontakte auf. Es sind hier jedoch in den Fasern, die größer sind als 20 Wicklungen, selten mehr als 2 nebeneinander verlaufende tight Junction Ketten anzutreffen. Die Illustration dieses Befundes kann der Abb. 14h entnommen werden, wo lediglich eine tight Junction Kette in der Membran eines longitudinal verlaufenden Zytoplasmaeinschlusses zu erkennen ist (Pfeil), welcher benachbart zur inneren Zunge liegt.

Abbildung 14

Nervus ischiadicus, Hühnerembryo, 14 Tage (b) und 18 Tage (a, c, d, e, f, g und h) bebrütet, Gefrierätzung

Abb. a:

Im schrägen Bruchverlauf sind die innere zytoplasmatische Zunge einer Markscheide sowie benachbarte Zytoplasmaeinschlüsse freigelegt. Der Pfeil markiert einen tight Junction Strang in der PF-Fläche der äußeren der beiden Membranen, die das innere Mesaxon bilden.

Abb. b:

Schrägbruch durch eine Markscheide aus etwa sechs Wicklungen um ein Axon von etwa einem Mikrometer Durchmesser

Die äußere und innere zytoplasmatische Zunge ist durch einen schwarzen und einen weißen Stern markiert. Die Membranen des inneren Mesaxon lassen einen tight Junction Strang erkennen (Pfeil); die Membranen des äußeren Mesaxon werden von vier nebeneinander verlaufenden tight Junctions durchzogen.

Abb. c bis f:

Längsbrüche entlang der Membranen des inneren Mesaxon und benachbarter Zytoplasmaeinschlüsse
In diesem weiter fortgeschrittenen Stadium der Myelogenese, das durch 8 bis 12 teilweise kompakte Schwann-Zellwicklungen um Axone von 1 bis 1,5 Mikrometer Durchmesser gekennzeichnet ist, finden sich bis zu sechs nebeneinander verlaufende tight Junction Kontakte in den Membranen des inneren Mesaxon. Die Membranen benachbarter Zytoplasmaeinschlüsse lassen in vergleichbarer Weise derartige Kontakte erkennen (d und e). In Abb. e erscheinen diese als punktförmige Verschmelzungen der Membranen (Pfeile).

Abb. g:

Querbruch durch eine Markscheide mit tight Junction Kontakt in den Membranen des inneren Mesaxon (Pfeil). Axon (AX).

Abb. h:

Stufenförmiger Bruchverlauf durch die äußere Zunge, entlang der inneren Membran des äußeren Mesaxon, durch die Myelinwicklungen und wieder entlang der Membranen eines longitudinalen Zytoplasmaeinschlusses sowie des inneren Mesaxon am unteren Bildrand. Tight Junction (Pfeil).

Vergrößerungen: a x 51000; b x 24000; c x 48000;
d x 56000; e x 49000; f x 41200;
g x 42000; h x 45500;

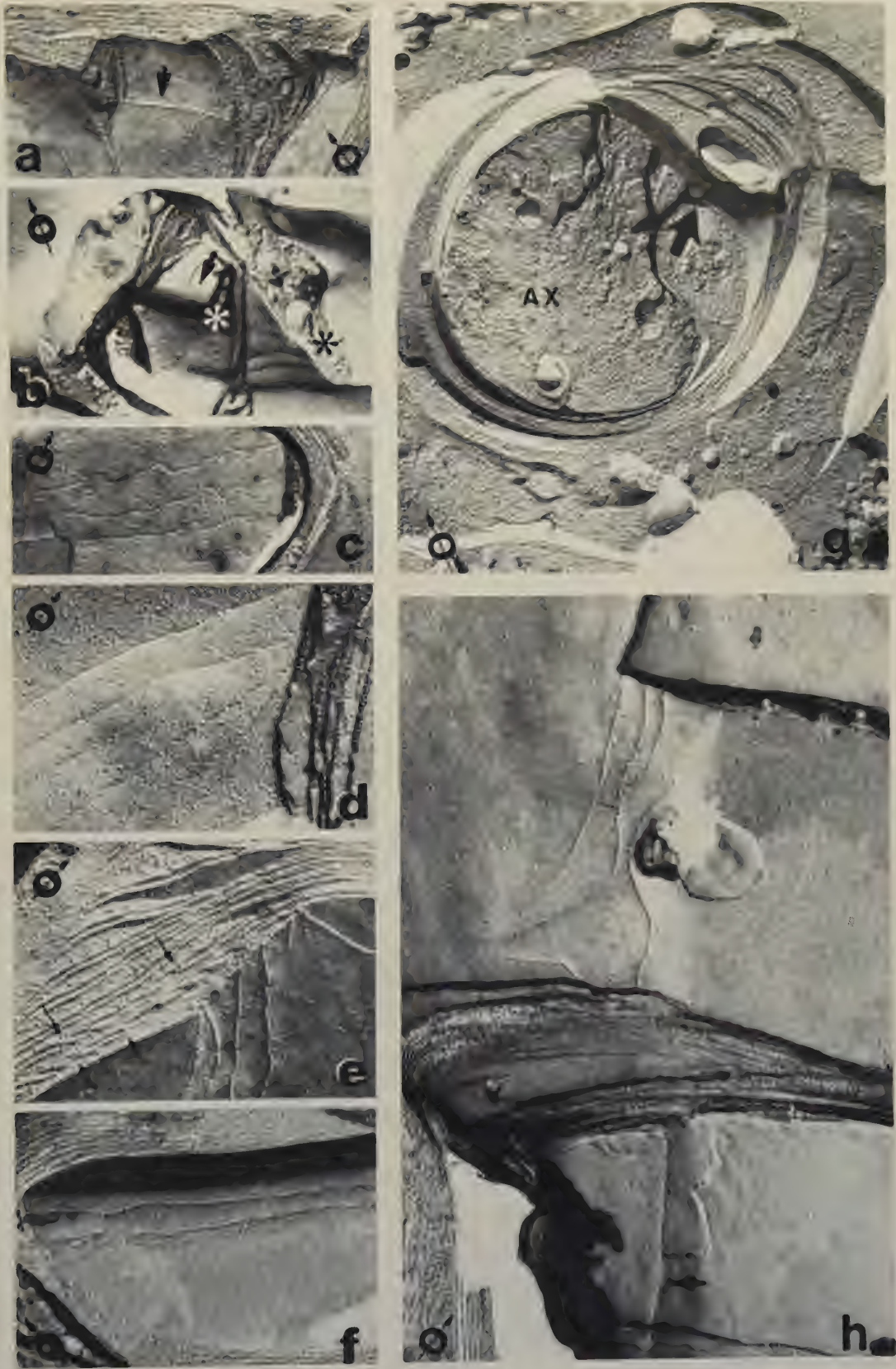


Abb. 14

5.1.5. Tight Junction Spezialisierungen im paranodalen Abschnitt der Markscheide

Im Bereich eines Ranvierschen Schnürringes, wo zwei Schwann-Zellen aneinander stoßen, erscheinen im Gefrierbruch die ineinandergreifenden Fortsätze der äußeren zytoplasmatischen Schwann-Zellwicklungen (Abb. 15a; Pfeil; 15b, oben). In den hier gezeigten Fällen ist das Zytoplasma der äußeren Schwann-Zellwicklung weggebrochen und der Blick auf die EF-Fläche ihrer inneren Membran freigegeben. Die hierin erkennbaren tight Junction Elemente verlaufen in einiger Entfernung vom Ranvierschen Knoten in longitudinaler Richtung, weiter zum Knoten hin schräg und schließlich in unmittelbarer Nachbarschaft zum Knoten quer zur Faserrichtung (Abb. 15a, untere Bildhälfte; und Abb. 15b und c). Es handelt sich hier um den Übergang der tight Junction Kontaktzone vom longitudinalen Verlauf im äußeren Mesaxon in den spiraligen Verlauf in den Membranen der paranodalen Schleifen. Der Begriff "Schleifen" rührt vom Schnittbild her; sie stellen den spiralig aufgewickelten, zytoplasmahaltigen, distalen und proximalen Rand der Schwann-Zelle dar. In der oberen Bildhälfte der Abb. 15a ist dieser Rand - hier die äußere Schwann-Zellzunge - mit der darunter liegenden tight Junction Kontaktzone in seinem bogigen Übergang vom longitudinalen zum spiraligen Verlauf freigelegt. Auch in diesem Bereich der Markscheide treten die tight Junction Kontakte zunächst als isolierte Partikelketten bzw. Furchen auf, die erst durch Verlängerung und End-zu-End Fusion mit anderen eine - soweit erkennbare - kontinuierliche Kontaktzone bilden (Abb. 15a bis c). Die Fortsetzung dieser Kontaktzone zwischen den paranodalen "Schleifen" kommt in Querbrüchen der Fasern deutlich zum Ausdruck (Abb. 16a und b). Hier folgen sie dem spiralig gewickelten Rand der Schwann-Zelle, wobei sie die paranodalen "Schleifen" miteinander verbinden.

Abbildung 15

Nervus ischiadicus, Hühnerembryo, 18 Tage bebrütet,
Gefrierätzung
Paranodale Abschnitte der Markscheide

Abb. a:

Längsbruch entlang eines Ranvierschen Schnürringes. Der Pfeil markiert die ineinandergreifenden Fortsätze der äußeren zytoplasmatischen Schwann-Zellwicklungen. Bei der Markscheide in der unteren Bildhälfte ist die EF-Fläche der äußeren der beiden Membranen freigelegt, die das äußere Mesaxon bilden. Hier ist der Übergang vom longitudinalen Verlauf der Kontaktzone im äußeren Mesaxon in den spiraligen Verlauf zwischen den paranodalen Schleifen erkennbar. Entsprechendes ist ebenfalls am oberen Bildrand sichtbar, wo man den Rand der äußeren Schwann-Zellzunge mit darunter liegender tight Junction Kontaktzone ausmachen kann.

Abb. b und c:

Quer verlaufende (dreidimensional-gesehen spiralig) tight Junction Kontakte im paranodalen Markscheidenabschnitt
(AX) Axon.

Vergrößerungen: a x 18500; b x 52500; c x 45000;

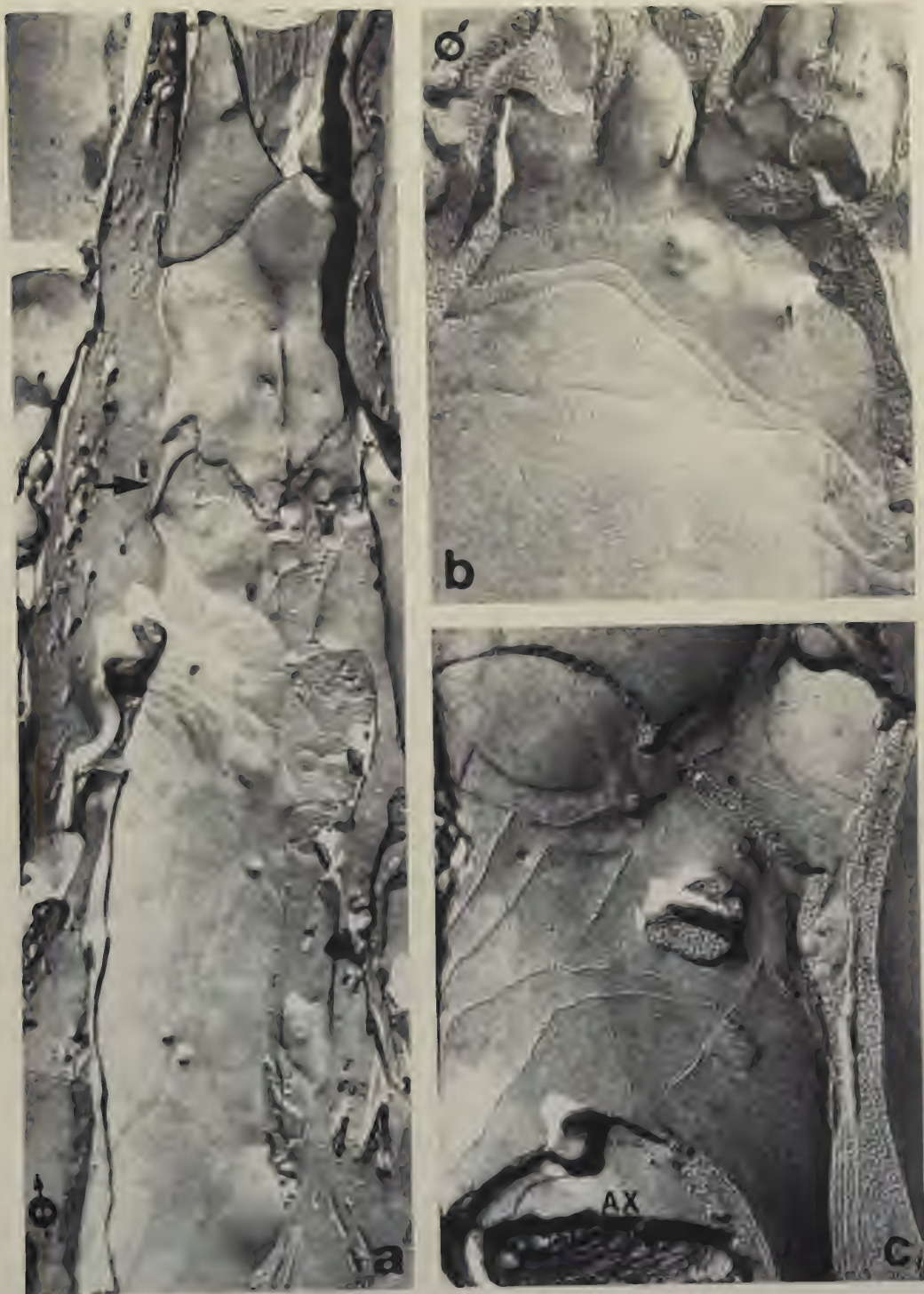


Abb. 15

Abbildung 25

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 4tägige Wallersche Degeneration nach Nervenquetschung im Alter von 4 Wochen

Semidünnschnitt, Azur-II-Methylenblau in Abb.a, Gefrierätzung in Abb. b bis f

Gap Junction Kontakte in den Membranen der Schwann-Zellen im Stadium der Markballenbildung

Dem Längsbruch durch einige Markballen (Abb. b) wurde ein Semidünnschnitt (Abb. a) des vergleichbaren Stadiums gegenübergestellt. Die Markballen füllen nahezu die Breite der Schwann-Zellbänder aus.

Abb. d zeigt als Ausschnittvergrößerung von Abb. b und c einige Gruppen intramembranöser Partikel. Diese liegen dicht gepackt und weisen in einigen Bereichen eine hexagonale Anordnung auf. Sie erfüllen im Gefrierätzungsbild die morphologischen Kriterien von Gap Junctions.

In Abb. f ist ein Ausschnitt von Abb. e und b herausvergrößert, in dem ein Gap Junction Kontakt in der EF-Fläche erkennbar ist, wo er als Ansammlung kleiner etwa 4 Nanometer großer Vertiefungen imponiert. Diese sind ebenfalls in einigen Bereichen des Kontaktes hexagonal angeordnet. Am rechten Rand des Kontaktes sind einige Partikel der PF-Fläche der dahinterliegenden Membran zu erkennen.

Vergrößerungen: a x 800; b x 8200; c x 32000;
d x 78000; e x 31000; f x 92000;

ser morphologischen Kriterien weisen sich diese Membranspezialisierungen als Gap Junction Kontakte aus.

Diese Kontaktaufnahme der Schwann-Zellen untereinander über Gap Junctions findet sich auch in den folgenden Stadien der Degeneration, wo sie noch weiter ausgebaut wird. Ein Gefrierbruch zur Zeit des Vollbildes des Markballenstadiums nach viertägiger Degeneration ist in Abbildung 25 demonstriert und zur besseren Orientierung einem Semidünnschnitt des entsprechenden Stadiums gegenübergestellt. Die Schwann-Zellen sind von perl-schnurartig angeordneten Markballen ausgefüllt, deren gewölbte Membranflächen im Gefrierbruch freigelegt sind. Durch die Proliferation der Schwann-Zellen läßt sich im Schnittbild schon alle 20 bis 30 Mikrometer ein Kern ausmachen, was etwa der Strecke des in b gezeigten Ausschnittes entspricht. In den Membranen der sich überlappenden Schwann-Zellen finden sich typischerweise Gap Junction Spezialisierungen (Abb. 25b mit den Ausschnitten c, d und e, f). Diese Gap Junctions zwischen den aneinanderliegenden Zellen der Schwann-Zellbänder können aus nur 10 bis 20 Partikeln bestehen, erreichen jedoch zumeist eine Ausdehnung von 50 bis 200 Partikeln.

Hier lassen sich aufgrund breiter Variationen innerhalb einer Zelle keine allgemein gültigen Größenangaben machen. Die Kontakte weisen nur in einigen Fällen eine streng hexagonale Anordnung der Partikel, beziehungsweise ihrer komplementären Vertiefungen auf. Häufig lagern sie sich zu kleinen Untergruppierungen innerhalb der Kontakte zusammen, in denen sie dann eine polygonale oder gar eine dichte unregelmäßige Anordnung annehmen.

Diese Gap Junction Kontakte zwischen den Schwann-Zellen des distalen Stumpfes werden ebenfalls in den späteren Stadien nach 4 bis 6tägiger Wallerscher Degeneration deutlich. Zu dieser Zeit sind ein Großteil der Markballen

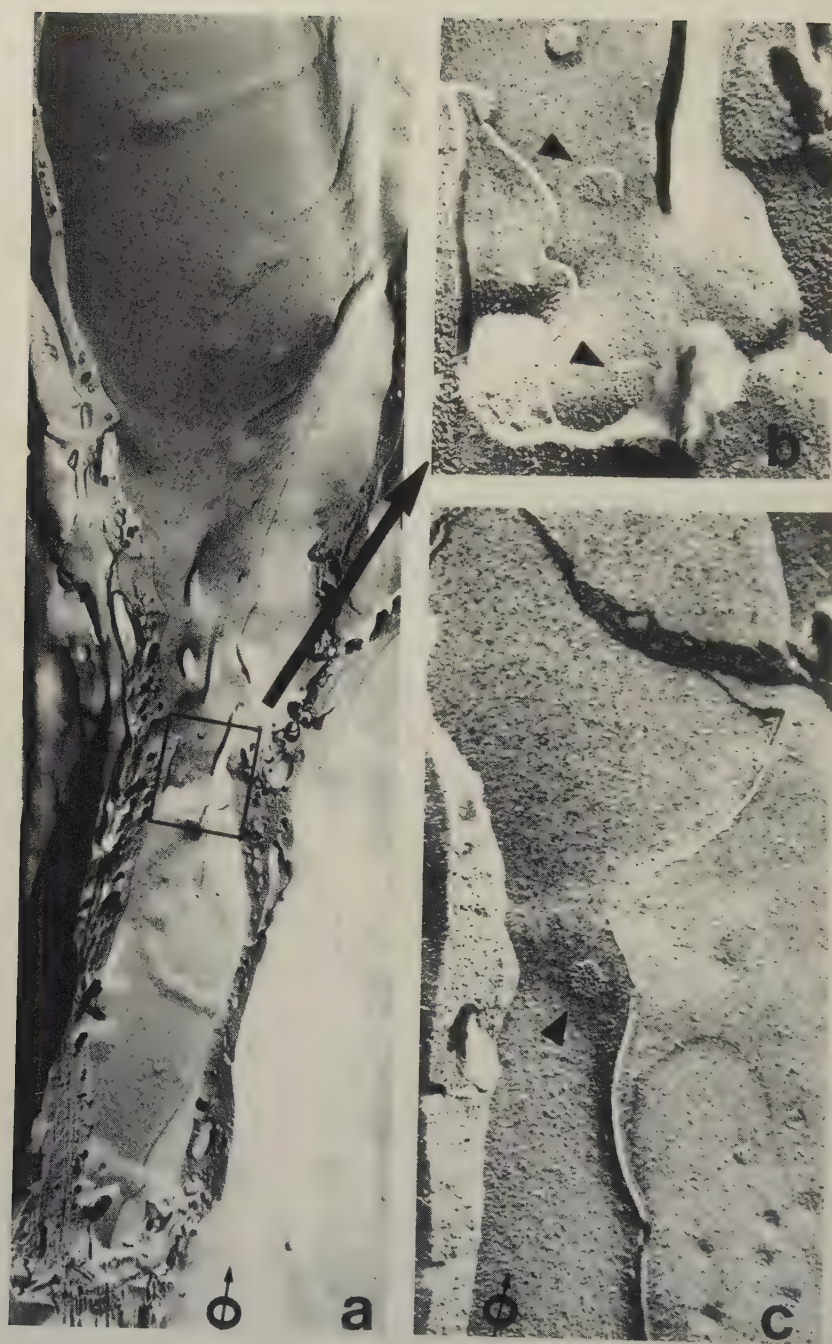


Abb. 24

Abbildung 24

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 2tägige Wallersche Degeneration nach Nervenquetschung im Alter von 4 Wochen, Gefrierätzung

Gap Junction Kontakte in Schwann-Zellmembranen

In Abb. a ist der Bereich eines Ranvierschen Schnürringes angebrochen. In den Membranen der zungenförmigen Zellausläufer, mit denen die Schwann-Zellen sich hier einander überlappen, finden sich Gap Junction Spezialisierungen (Pfeilköpfe in Abb. b als Ausschnitt von Abb. a).

In Abb. c ist ein kleiner Gap Junction Kontakt in den Membranen des äußeren Mesaxon erkennbar (Pfeilkopf). Ob der hier gezeigte Kontakt neu gebildet wurde, oder schon in der nicht lädierten Markscheide bestanden hat, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden.

Vergrößerungen: a x 12000; b x 56000; c x 48000;

Es muß betont werden, daß nach 6tägiger Wallerscher Degeneration keinerlei tight Junction Kontakte mehr darzustellen waren.

Wie die Abbildung 23 e zeigt, kommen vereinzelt Gap Junctions im Bereich der mesaxonalen tight Junction Kontakte vor. Zum einen können diese von Gap Junctions herrühren, die in normalen Markscheiden äußerst selten anzutreffen sind. Zum anderen könnten sie Neubildungen darstellen, was durch ihr gehäuftes Vorkommen bei der Wallerschen Degeneration gestützt wird, wie im folgenden Abschnitt dargestellt werden soll.

5.3.4. Gap Junction Kontakte in den von Büngnerschen Zellbändern

Wie bereits im vorangegangenen Abschnitt erwähnt, treten bereits nach 2 Tagen der Wallerschen Degeneration vermehrt Partikelaggregate in den mesaxonalen Membranen auf, wo sie isoliert in der Nähe der tight Junction Kontakte liegen. Sie weisen zum Teil weniger als 10 Partikel auf, bestehen jedoch meist aus 30 bis 60 teilweise hexagonal angeordnete Partikeln von 8 bis 9 Nanometer Durchmesser. Derartige Membranspezialisierungen werden nicht nur in den Mesaxonen (Abb. 24c), sondern auch in den Bereichen der Ranvierschen Schnürringe gebildet, wo zwei Schwann-Zellen aneinanderstoßen (Abb. 24a und b). Sie lassen sich hier durch Gefrierbrüche in den Membranen zungenförmiger Schwann-Zellfortsätze freilegen, mit welchen die Zellen einander überlappen. Auch sie weisen häufig nicht mehr als 30 bis 50 Partikel auf, die teils polygonal, teils auch hexagonal angeordnet sind. Die hexagonale Anordnung findet sich deutlicher in den anhaftenden EF-Flächen wieder, die sich typischerweise durch Vertiefungen von 3 bis 4 Nanometer Größe auszeichnen. Der Zentrum-zu-Zentrum-Abstand dieser Vertiefungen mißt etwa 10 Nanometer. Aufgrund die-



Abb. 23

Abbildung 23

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 2tägige (a, b, c, d und e) und 4tägige (f) Wallersche Degeneration nach Nervenquetschung im Alter von 4 Wochen, Gefrierätzung

Stadien des Abbaus der myelinären tight Junction Kontakte

Zahlreiche tight Junction Kontakte finden sich in diesem Stadium in den Membranen von Vakuolen des Schwann-Zellzytoplasmas, was in Abb. a als Ausschnitt von Abb. b deutlich zum Ausdruck kommt. Abbildung c (Ausschnitt von Abb. b) zeigt das typische Bild der tight Junction Maculae, die als Reste der tight Junction Kontaktzonen der Mesaxone gefunden werden.

In Abb. d, e und f ist eine Auswahl derartiger Zusammenlagerungen von tight Junction Elementen demonstriert.

Wie Abb. f deutlich zeigt, ist die Zellmembran innerhalb der Maculae deutlich eingewölbt.

Die in Abb. d mit Pfeilen markierte schlituartige Membraneinfaltung wird als Momentbild einer endozytotischen Aufnahme der tight Junction Maculae angesehen. Selten finden sich auch Gap Junction Kontakte im Bereich der tight Junction Maculae (Abb. e, Pfeilkopf).

Vergrößerungen: a x 51000; b x 15000; c x 66000;
d x 48000; e x 56000; f x 60000;

generation - häufig bis zum 4. Tag - noch identifizieren. Entsprechend dem Fasertyp finden sich hier in den kleinen Fasern mehr (Abb. 23a und b) tight Junction Ketten als in den großen Fasern (Abb. 22a, b, c, d und e).

Die typische parallele Anordnung der tight Junction Stränge ist aufgegeben, und sie erscheinen als Gruppen kurzer tight Junction Elemente in runde bis polygonale Maculae zusammengelagert. Offenbar kommt es zu einer Fragmentierung der tight Junction Stränge, die in der Membran zu derartigen zirkulären, drei- oder vieleckigen tight Junction Resten zusammenfließen, wie sie in einer Auswahl in den Abbildungen 22e, g und h sowie 23d, e, f und g dargestellt sind.

Zahlreiche tight Junction Ketten können in intrazytoplasmatischen Vakuolen wiedergefunden werden, was für ihre endozytotische Aufnahme in das Zytoplasma der Schwann-Zelle spricht. In diesem Zusammenhang erscheint der Befund der eingewölbten Zellmembran innerhalb des in Abbildung 23 f gezeigten hufeisenförmigen tight Junction Stranges von Bedeutung. Darüber hinaus wird die Annahme eines endozytotischen Abbauweges der tight Junctions durch das Vorkommen von schlitzförmigen Membraneinfaltungen unterstützt, von denen eine als Beispiel in Abbildung 23 d gezeigt ist (Pfeile). Entsprechend der größeren Anzahl von tight Junction Kontakten in den kleinen Fasern finden sich hier in den Membranen der im Schwann-Zellzytoplasma liegenden Vakuolen vergleichsweise mehr tight Junction Kontakte als Leisten in den PF-Flächen und als Furchen in den EF-Flächen der Vakuolen-Membranen. In einigen Abschnitten fällt eine Abflachung der tight Junction Ketten auf, was möglicherweise auf ihren enzymatischen Abbau in den Vakuolen zurückzuführen ist.

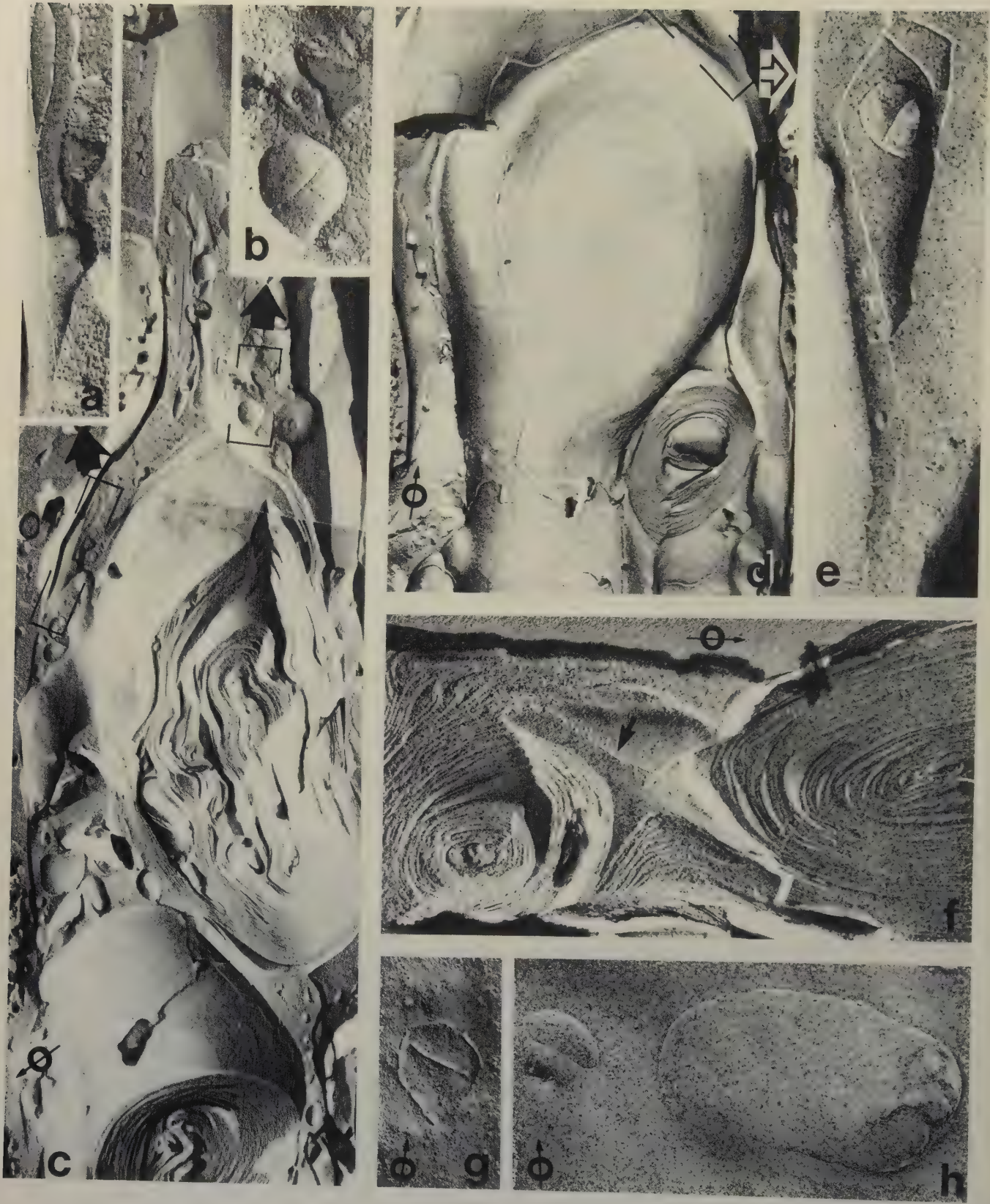


Abb. 22

Abbildung 22

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 2tägige (a, b, c, f und g) und 4tägige (d, e und h) Wallersche Degeneration nach Quetschung im Alter von 4 Wochen, Gefrierätzung

Die Markscheiden sind zu lamellär geschichteten Markballen zerfallen (Abb. c, d und f). Tight Junction Kontakte der Mesaxone sind an einigen Stellen noch zu identifizieren, wie in Abb. a als Ausschnitt von Abb. c und in Abb. e als Ausschnitt von Abb. d. Die tight Junction Elemente sind in runde bis polygonale Maculae angeordnet, was deutlich in Abb. e, g und h erkennbar ist. Tight Junction Elemente lassen sich auch in den Membranen von Vakuolen des Schwann-Zellzytoplasmas wiederfinden (Abb. b als Ausschnitt von Abb. c). In Abb. f markiert der Pfeil einen tight Junction Kontakt in der Membran einer Schmidt-Lantermanschen Inzisur.

Vergrößerungen: a und b x 30500; c x 13800;
d x 14200; e x 66000; f x 46400;
g x 56000; h x 55000;

5.3.2. Wallersche Degeneration des Myelin im Gefrierätzungsbild

In den Gefrierätzungspräparationen der nach Waller degenerierenden, distalen Nervenabschnitte begegnen uns die Markballen als große, aus geschichteten Myelinlamellen aufgebaute, kugelige bis ellipsoide Gebilde. Die Bruchflächen dieser Ballen lassen typischerweise eine kompakte Schichtung der Myelinmembranen erkennen. Diese Membranen besitzen in diesem Stadium noch zahlreiche intramembranöse Partikel, die erst mit der weiteren Segregation der Ballen zu kleineren Myelinkugeln allmählich verschwinden. Diese Kugeln schnüren sich von den großen Markballen ab, und durch den Abbau ihrer Membranen entstehen aus ihnen kleinere homogen erscheinende Vakuolen. Letztere ähneln im Gefrierätzungsbild den Bildern von gefriergebrochenen Liposomen (Ververgaert et al., 1972), worauf in dieser Arbeit nicht näher eingegangen werden soll.

5.3.3. Abbau der tight Junction Kontakte bei Wallerscher Degeneration

Da die tight Junction Kontakte der normalen Markscheide sich auf die zytoplasmatischen Anteile der Schwann-Zelle beschränken, weisen die kompakt geschichteten Membranen der Markballen selbst typischerweise keine tight Junction Kontakte auf. Wohl aber in den Membranen der zytoplasmatischen Inzisuren, welche häufig die Zerfallstellen in die Markballen darstellen, sind tight Junction Kontakte nachweisbar. Eine derartige Inzisure mit tight Junction Elementen zwischen zwei aufgebrochenen, geschichteten Markballen ist in der Abbildung 22 f freigelegt. Der Kontakt besteht hier noch aus den typischen Leisten aneinandergereihter und abschnittsweise fusionierter Partikel.

Die tight Junction Kontaktzonen der äußeren Mesaxone lassen sich in den frühen Stadien der Wallerschen De-

deutlichen Proliferation der Schwann-Zellen, die sich in langgestreckte Zellbänder anordnen. In unseren Präparationen erreicht diese Bildung der von Büngnerschen Zellbänder nach 8 Tagen ihren Höhepunkt (Abb. 21c; Pfeile). Sie bestehen aus spindelförmig ausgezogenen Schwann-Zellen, die einander überlappend eine glatte Bandkontur schaffen, wobei durch die massive Proliferation der Zellen die Zellkerne oft in Abständen von weniger als 10 Mikrometern zueinander angeschnitten sind.

Nach Nervenquetschung ohne Kontinuitätstrennung der bindegewebigen Strukturen kommt es bereits sehr früh zu einem erneuten Einsprossen von Axonen in den distalen Stumpf, welche ihren Ausgang von den Axonstümpfen proximal zur Läsionsstelle nehmen. Im Elektronenmikroskop ließen sich bereits nach 4 Tagen die ersten Axonsprossen in dem von uns untersuchten Nervenabschnitt identifizieren. Schon nach 8 Tagen sind im Elektronenmikroskop erste Remyelinisierungen nachweisbar, während die Büngnerschen Bänder zu diesem Zeitpunkt noch das Bild beherrschen. Die Schwann-Zellen der Büngnerschen Zellbänder beginnen also bereits sehr früh geeignete Axone zu separieren und sie einzeln zu umwickeln. Im lichtmikroskopischen Bild erscheinen die ersten deutlich sichtbaren Markscheiden um den 11. Tag, und bereits 3 Tage später sind zahlreiche Fasern von dünnen Markscheiden umgeben (Abb. 21d). Die Anordnung in die von Büngnerschen Zellbänder wird hierbei nach und nach wieder aufgegeben.

Nach Nervenquetschung laufen folglich die regenerativen Vorgänge bereits frühzeitig neben den degenerativen Prozessen ab, was schon von zahlreichen Autoren beschrieben worden ist.

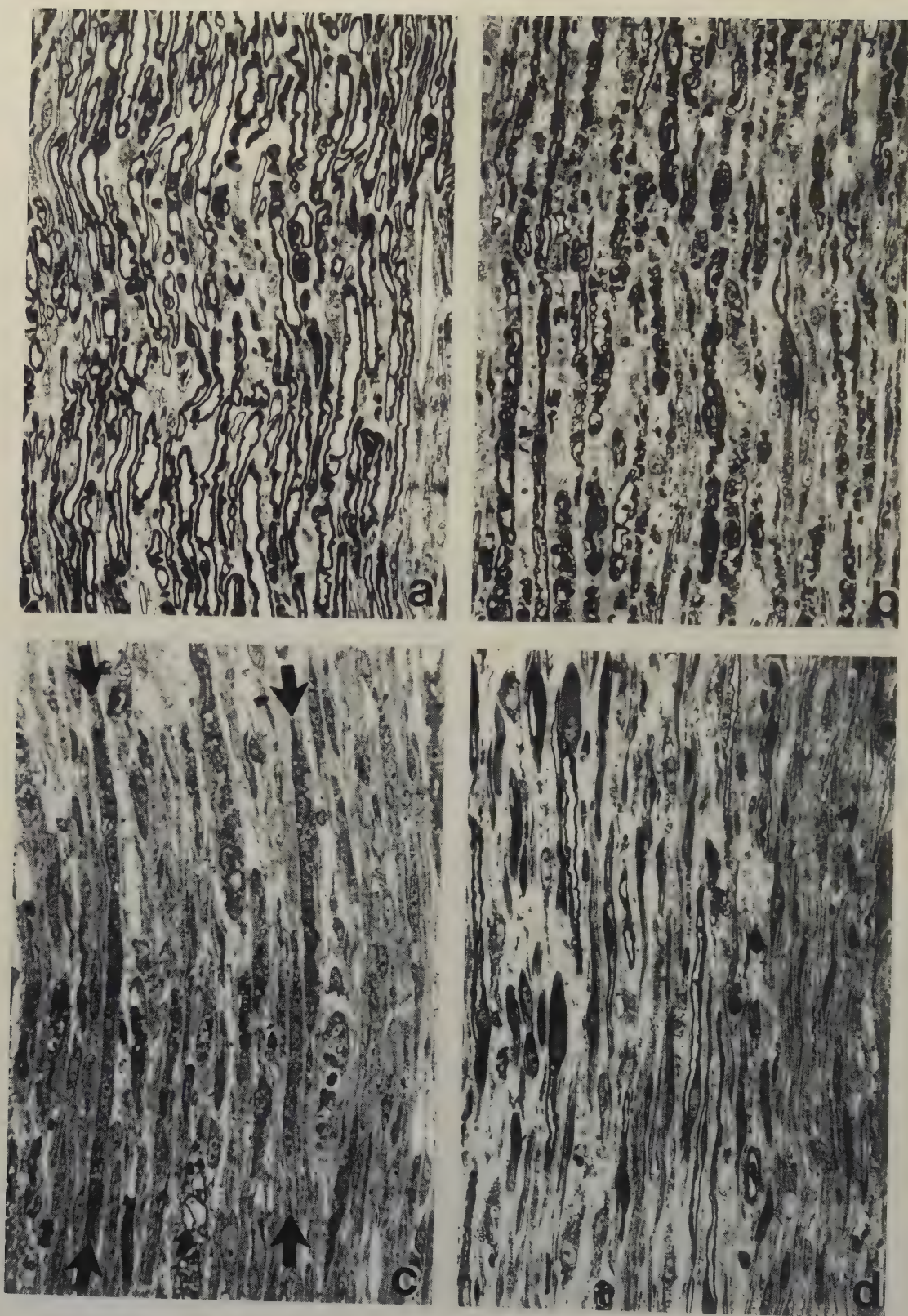


Abb. 21

Abbildung 21

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 2- bis 14tägige
Wallersche Degeneration nach Läsion im Alter von
4 Wochen
Semidünnschnitt, Azur-II-Methylenblau
Lichtmikroskopische Übersicht über einige wichtige
Stadien der Wallerschen Degeneration

Abb. a:
Unregelmäßige Konturen der Markscheiden im distal
zur Läsionsstelle gelegenen Nervenabschnitt 2 Tage
nach Quetschung

Abb. b:
Vollbild des Markballenstadiums im distalen Abschnitt
4 Tage nach Quetschung

Abb. c:
Deutlich ausgebildete von Büngnersche Zellbänder
nach 8tägiger Degeneration (Pfeile)

Abb. d:
Dünne remyelinisierte Markscheiden im distal zur Läsionsstelle gelegenen Nervenabschnitt 14 Tage nach Nervenquetschung

Vergrößerungen: a-d x 500;

entsprechen. Zu beachten ist ferner die Häufung intramembranöser Partikel in der Axonmembran unmittelbar am Ranvierschen Knoten (Abb. 20, links oben).

5.3. WALLERSCHE DEGENERATION UND NACHFOLGENDE REGENERATION

5.3.1. Lichtmikroskopische Übersicht über die Stadien der Wallerschen Degeneration

Bevor auf die Zellkontakttereignisse bei der Wallerschen Degeneration eingegangen wird, sollen an dieser Stelle die wichtigsten Stadien der Wallerschen Degeneration und nachfolgenden Regeneration in ihrem zeitlichen Ablauf nach Nervenquetschung anhand des lichtmikroskopischen Bildes in Semidünnschnitten rekapituliert werden. Ein Großteil dieser Befunde wurde von zahlreichen Autoren bereits eingehend beschrieben, weshalb hier nur der didaktische Anspruch der Korrelation des später beschriebenen Gefrierätzungsbildes mit den bekannten Bildern der Wallerschen Degeneration erfüllt werden soll.

In dem von uns zur Untersuchung gewählten Nervenabschnitt, der sich vom 2. bis 4. Millimeter distal zur Läsionsstelle erstreckt, weisen die Markscheiden 2 Tage nach Quetschung unregelmäßige Konturen auf und beginnen, in die sogenannten Markballen zu segmentieren (Abb. 21a). Das Vollbild des Markballenstadiums ist schon nach 4 Tagen erreicht, wie Abbildung 13b dokumentiert. Das durch die Osmiumfixierung geschwärzte Myelinmaterial stellt sich als dunkle, unregelmäßig konfigurierte, längliche Gebilde von mehreren Mikrometern Durchmesser dar. Einige weisen typischerweise ein helles Zentrum auf, in welchem Reste der zerfallenden Axone nachweisbar sind. Gleichzeitig zu dem Zerfall dieser Markballen in kleinere Myelinkügelchen kommt es vom 3. Tage der Degeneration an zu einer



Abb. 20

Abbildung 20

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 4 Wochen alt, Gefrier-
ätzung

Paranodale axo-gliale Kontaktzone einer ausdifferen-
zierten Markscheide

In der EF-Fläche der Axonmembran finden sich Gruppen
intramembranöser Partikel. Paranodal konzentrieren
sich diese auf die "Wellentäler" der EF-Fläche der
Axonmembran, d. h. auf den Bereich zwischen den an-
stoßenden paranodalen Schleifen. Im Bereich der an-
stoßenden paranodalen Schleifen ist die Axonmembran
vorgewölbt und weist eine feine Textur auf, die aus
feinen parallel-verlaufenden Furchen besteht.

Zu beachten ist die relative Dichte intramembranöser
Partikel am Ranvierschen Schnürring selbst, der in
der oberen linken Bildecke erkennbar ist.

In der oberen rechten Bildecke findet sich in einer
parallel verlaufenden Faser ein quer verlaufender
tight Junction Kontakt in einer Schmidt-Lantermans-
schen Inzisur.

Vergrößerung: x 37500;

Zellkontakte vom Gap Junction Typ kommen in normalen Markscheiden nur in sehr seltenen Fällen vor, wo sie im Bereich der mesaxonalen und paranodalen tight Junction Kontaktzone liegen. Die wenigen Kontakte, die gefunden wurden, weisen nicht mehr als 50 Partikel auf und liegen in der Nähe von tight Junction Ketten, ohne diesen unmittelbar angelagert zu sein.

5.2.4. Axo-gliale Kontaktformation

Die axo-gliale Kontaktzone im paranodalen Abschnitt der Markscheide weist in den Membranen der paranodalen Schleifen die typischen parallelen Reihen aus intramembranösen Partikeln und Vertiefungen auf, wie sie bereits gegen Ende der Bebrütungsperiode beschrieben worden sind. Die Axonmembranen lassen eine sehr charakteristische Reliefstruktur erkennen (Abb. 20). Aufgrund der anstoßenden paranodalen Schleifen weisen sie eine wellige Oberflächenform auf. In den EF-Flächen ihrer Membran zeigen die "Wellentäler" eine Häufung intramembranöser Partikel, die teilweise als Rosetten zusammengelagert sind. Die Wellenberge der axonalen EF-Flächen weisen feine Furchungen auf, die im Winkel von ca. 50 Grad zu dem Verlauf der Wellen ausgerichtet sind und parallel zueinander in einem Abstand von ca. 24 Nanometer verlaufen.

Bei geeigneter Präparation erkennt man eine feine, regelmäßige Riffelung, die die Furchen miteinander verbindet und etwa einen Winkel von 45 bis 60 Grad mit den Furchen bildet. Diese Riffelung weist ihrerseits eine Periodizität von ca. 10 Nanometer auf (siehe hierzu auch die Abbildung 33, die diese Ax-EF-Fläche bei stärkerer Vergrößerung nach 14tägiger Regeneration zeigt). Es überrascht, daß die Ax-PF-Fläche (Abb. 18c) kein komplementäres Bild aufweist und hier lediglich die Partikelhäufungen anzutreffen sind, die hier auf den Wellenbergen liegen, welche den Tälern der EF-Flächen



Abb. 19

Abbildung 19

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 4 Wochen alt, Gefrier-
ätzung

Repräsentative Gefrierbrüche von Fasern großen Typs
mit etwa 60 Myelinwicklungen

Die äußere mesaxonale Kontaktzone ist in a und b
freigelegt und in c als Ausschnittsvergrößerung von
b demonstriert. In Fasern dieses großen Typs besteht
die Kontaktzone nur noch aus kurzen, isolierten
tight Junction Ketten, so daß nicht mehr von einer
Zonula occludens die Rede sein kann.

Vergrößerungen: a x 5200; b x 5200; c x 15000;

Lantermanschen Inzisuren lediglich einen tight Junction Strang auf (Abb. 20, oberer rechter Bildrand; Pfeil).

5.2.3. "Große" Markscheiden

Während die kleinen Nervenfasern, wie oben dargelegt, überwiegend kontinuierliche tight Junction Kontaktzonen - im Sinne einer Zonula occludens - aufweisen, lassen sich in den Fasern mit mehr als 40 Wicklungen nur noch diskontinuierliche tight Junction Kontaktzonen in den Membranen des äußeren Mesaxon antreffen (Abb. 19a, b und c). Im letzteren finden sich oft nur isolierte focale tight Junction Ketten von wenigen Mikrometern Länge, die überwiegend frei enden. Sowohl eine fehlende Vernetzung, als auch das abschnittsweise völlige Fehlen von tight Junction Kontakten demonstrieren die Diskontinuität der Kontaktzonen in diesen großen Markscheiden. Ein Repräsentant dieses Fasertyps ist in Abb. 19b und als herausvergrößerter Ausschnitt in Abb. 19c gezeigt. Die mesaxonalen tight Junction Ketten folgen überwiegend dem leicht geschlängelten Verlauf des Randes der äußeren Schwann-Zellzunge.

Diese von der Fasergröße abhängigen Unterschiede der myelinären tight Junctions ließen sich in einer Auszählung von 66 Fasern bestätigen, bei denen die äußere mesaxonale Kontaktzone freigelegt und zugleich eine Zählung der Myelinwicklungen möglich war. Die kleinen Fasern zeigen hierbei regelmäßig mindestens einen, meist jedoch zwei bis vier (selten auch mehr) nebeneinander verlaufende Stränge, die zum Teil anastomosieren. Lücken und Unterbrechungen sind in dieser Gruppe vergleichsweise selten. Dagegen finden sich in großen Fasern mit über 40 Wicklungen oft Unterbrechungen, das heißt Null bis drei nebeneinander liegende Stränge, die in der Regel auch kürzer und kaum vernetzt sind.

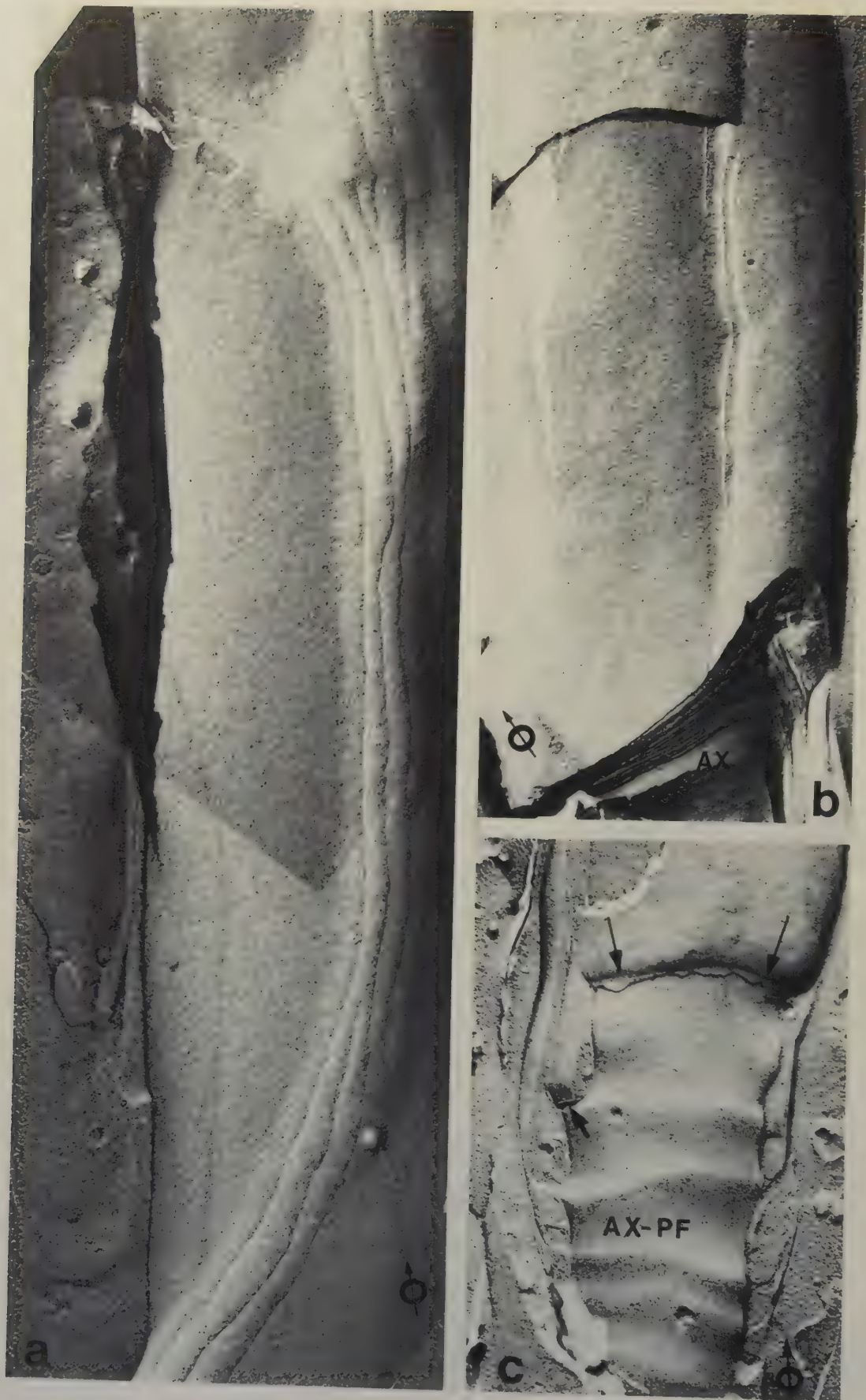


Abb. 18

Abbildung 18

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 4 Wochen alt, Gefrier-
ätzung

Repräsentative Gefrierbrüche von Nervenfasern klei-
nen Typs bis 25 Myelinwicklungen

Abb. a und b:

Die tight Junction Kontaktzonen der äußeren Mesaxone
werden von zwei bis sechs nebeneinander verlaufenden
tight Junction Strängen gebildet.

Abb. c:

Paranodaler Markscheidenabschnitt

Die Pfeile markieren tight Junction Kontakte zwischen
den paranodalen Schleifen. In der PF-Fläche der Axon-
membran konzentrieren sich die intramembranösen Par-
tikel in den hier konvex gebogenen Membranabschnitten;
diese liegen in dem Bereich zwischen den anstoßenden
paranodalen Schleifen.

Vergrößerungen: a x 24500; b x 32500; c x 26000;

tight Junction Kontaktzonen aufweisen.

Diese Unterschiede sollen im folgenden beschrieben werden:

5.2.1. "Marklose" Nervenfasern

In marklosen Nervenfasern, an denen mehrere Axone in longitudinalen Rinnen einer gemeinsamen Schwann-Zelle verlaufen, sind keine tight oder Gap Junctions angetroffen worden.

5.2.2. "Kleine" Markscheiden

In Nervenfasern mit bis zu 20 Myelinwicklungen um Axone von 1,5 bis 2 Mikrometer Durchmesser finden sich in den Membranen der Mesaxone und paranodalen Schleifen überwiegend kontinuierliche tight Junction Kontaktzonen. Sie bestehen im äußeren Mesaxon aus 2 bis 6, selten auch mehr, etwa parallel verlaufenden tight Junction Strängen, die selbst oft mehr als 10 Mikrometer lang sind. Diese tight Junction Ketten bzw. Furchen nähern sich an ihren Enden Nachbarsträngen an, enden jedoch des öfteren im Abstand von wenigen Nanometern von ihnen frei (Abb. 18 a und b). Gegenüber der Endphase der Embryonalentwicklung finden sich in Fasern dieser vergleichbaren Größe allenfalls diskrete Unterschiede, wie eine Verlängerung der einzelnen nahezu parallel verlaufenden tight Junction Stränge. Quer vernetzende tight Junctions sind relativ seltener anzutreffen, was ab und zu zu geringfügigen Diskontinuitäten von weniger als 0,1 Mikrometer Länge in der Kontaktzone führen kann. Diese Kontaktzone folgt - wie bereits bei der Embryonalentwicklung beschrieben - dem zytoplasmahaltigen Rand der Schwann-Zelle, das heißt, sie verläuft in longitudinaler Richtung in den Mesaxonen und nimmt paranodal einen spiraligen Verlauf an (Abb. 18c). Außerdem finden sich ebenso wie in der Embryonalentwicklung tight Junction Ketten in den Membranen der longitudinalen und zirkulären zytoplasmatischen Einschlüsse. Häufig weisen die Membranen der Schmidt-

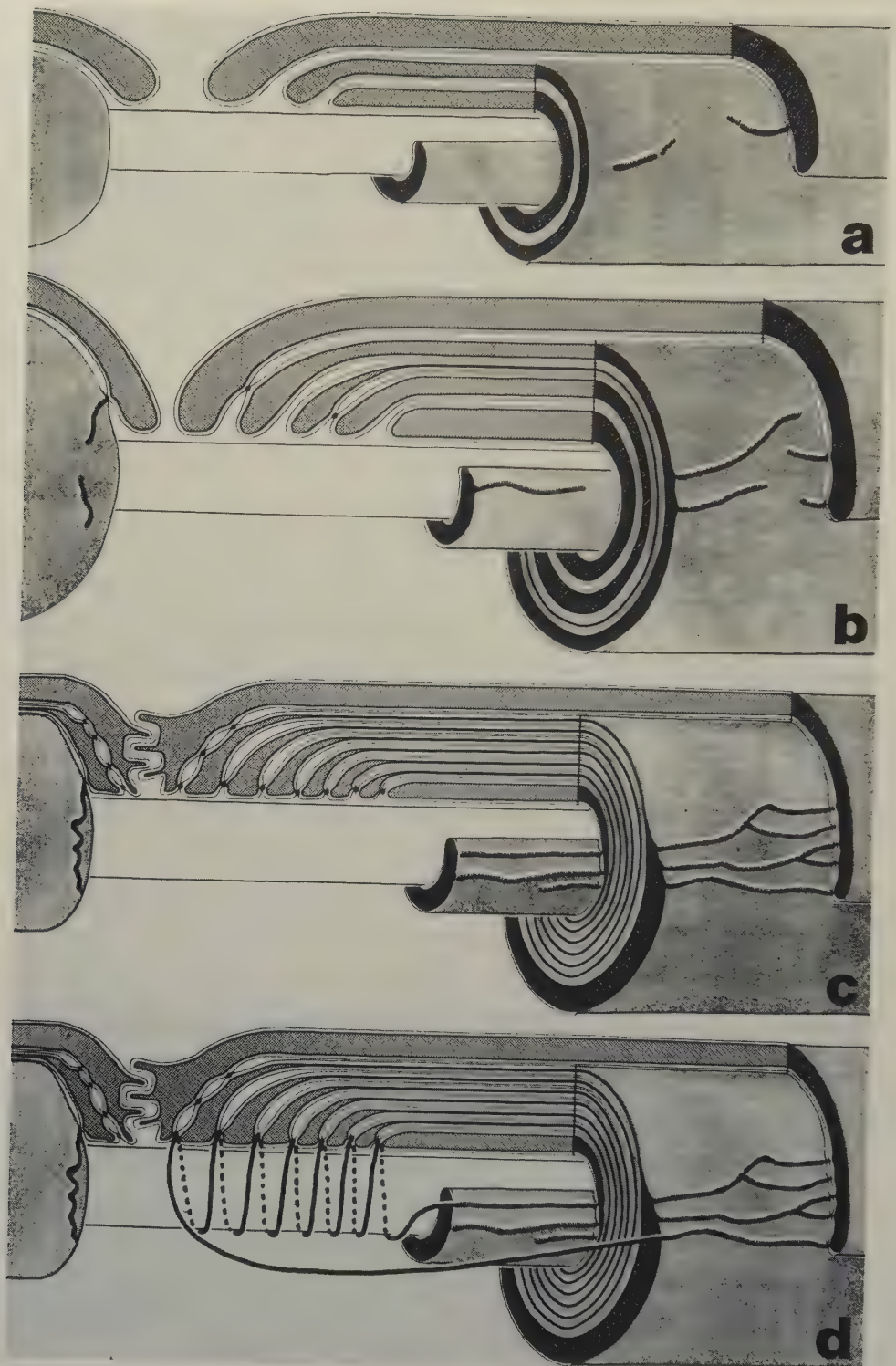


Abb. 17

Abbildung 17

Schematisierte Darstellung der Entwicklung der tight Junction Kontakte in den Markscheiden des embryonalen Nervus ischiadicus des Hühnchens

Kurze focale tight Junction Spezialisierungen treten mit den ersten Schwann-Zellwicklungen in den Membranen der aneinanderliegenden Schwann-Zellmembranen auf. In den Markscheiden mit etwa fünf bis sechs größtenteils noch zytoplasmahaltigen Schwann-Zellwicklungen um Axone von ca. einem Mikrometer Durchmesser finden sich in den Membranen der Mesaxone und paranodalen Schleifen tight Junction Kontakte.

Diese werden zahlreicher und länger, so daß durch End-zu-End Fusion und End-zu-Seit Fusion der Elemente eine weitestgehend kontinuierliche tight Junction Kontaktzone entsteht. Diese Kontaktzone folgt mit longitudinalem Verlauf den mesaxonalen Membranen und nimmt paranodal einen spiraligen Verlauf, was in Abb. d verdeutlicht wurde.

(siehe Abb. 33) ist hier noch nicht erkennbar. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß es erst wenig ausgeprägt ist und daher bei der Bedampfung zugedeckt wurde.

5.1.7. Zusammenfassung der Befunde zur Entwicklung der tight Junction Kontaktzone

Zusammenfassend ist zu sagen, daß in den frühen Stadien der Myelogenese eine kontinuierliche tight Junction Kontaktzone in den Markscheiden mit bis zu 20 Wicklungen entsteht. Diese tight Junctions treten in den Membranen der Mesaxone und paranodalen Schleifen zunächst als Partikelketten auf, welche sich verlängern und durch End-zu-End- und End-zu-Seit-Verschmelzung mit anderen Ketten eine, soweit übersehbare, kontinuierliche Kontaktzone bilden.

Die Schritte dieser Entwicklung sind in ihrer Beziehung zur Myelogenese in den Abbildungen 17 a bis c skizziert. In Abb. 17d wurden die tight Junction Kontaktzonen der einzelnen Abschnitte der Markscheide durch eine Linie verbunden, die den kontinuierlichen Verlauf in den Membranen des zytoplasmatischen Randes der Schwann-Zelle verdeutlichen soll. Die tight Junction Kontakte der Schmidt-Lantermanschen Inzisuren und die ersten Differenzierungen der axo-glialen Kontakte wurden hier weggelassen.

5.2. TIGHT JUNCTION KONTAKTE IN DEN MARKSCHEIDEN DES NERVUS ISCHIADICUS VIER WOCHEN ALTER HÜHNCHEN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DER FASERGRÖSSE

Während sich schon zur Zeit des Schlüpfens in den größten Markscheiden eine Verminderung der Anzahl der tight Junction Kontakte abzeichnete, setzt sich dieser Prozeß in den weiter myelinisierenden Fasern fort, so daß nach vier Wochen typische fasergrößenspezifische Unterschiede der myelinären tight Junction Kontaktzone ausgebildet werden, wobei die großen Markscheiden diskontinuierliche



Abb. 16

Abbildung 16

Nervus ischiadicus, Hühnerembryo, 16 Tage (a und c) und 18 Tage (b) bebrütet, Gefrierätzung

Abb. a und b:

Querbrüche durch die paranodalen Markscheidenabschnitte

In Abb. a ist ein Teil des paranodalen Schwann-Zellrandes freigelegt, dessen Schnittbild als sogenannte paranodale Schleife bekannt ist. In der Membranfläche, die der folgenden Wicklung des Randes anliegt, finden sich tight Junction Partikelketten (Pfeile). Diese treten anfangs isoliert auf. In den späteren Stadien der Myelogenese findet sich im paranodalen Myelin ein einzelner tight Junction Strang (Abb. b; Pfeile). Dieser oft girlandenförmig verlaufende tight Junction Kontakt folgt dem spiralförmigen Rand der Schwann-Zelle und verbindet hierbei die paranodalen Schleifen miteinander.

Abb. c:

Paranodaler Abschnitt einer myelinisierenden Faser mit axo-glialem Membrandifferenzierung

Die äußere Schwann-Zellzunge verschwindet am oberen Bildrand; hier ist die tight Junction Kontaktzone des äußeren Mesaxon angebrochen (hohler Pfeil). Die noch nicht kompakten Myelinwicklungen enden als "paranodale Schleifen" am Axon. Der dicke Pfeil markiert eine tight Junction Furche in den Membranen einer "Schleife". In der unteren Bildhälfte ist die EF-Membranfläche des Axons (AX EF) und weiter unten im Bild die dem Axon anliegende Membran der Schwann-Zelle in ihrer PF-Fläche freigelegt (SC PF). Die Schwann-Zellmembran weist Reihen von Partikeln auf, die streng parallel im Abstand von 24 Nanometer zueinander in einem Winkel von etwa 70 Grad zur Faserachse verlaufen.

Vergrößerungen: a x 36000; b x 50000; c x 61000;

In den Entwicklungsstadien der Markscheide, die noch aus 6 bis 8 zum Teil zytoplasmatischen Wicklungen um Axone von 1 bis 1,5 Mikrometer Durchmesser bestehen, treten sie hier zunächst als kurze Einzelketten auf (Abb. 16a). Diese Einzelketten verlängern sich zu einem girlandenförmigen, kontinuierlichen tight Junction Strang und verschmelzen End-zu-End. Dieser spiralig durch das paranodale Myelin ziehende Strang stellt das charakteristische Bild der myelinären tight Junction Kontaktzone in diesem Abschnitt der Markscheide dar (Abb. 16b; Pfeile; 16c; kurzer schwarzer Pfeil in der oberen Bildhälfte).

5.1.6. Axo-gliale Membrandifferenzierungen in myelinisierenden Fasern

Wie der Abbildung 16 darüber hinaus zu entnehmen ist, bilden sich bereits in den Entwicklungsstadien der noch nicht kompakten Markscheide um Axone von etwa 0,8 bis 1,0 Mikrometer Durchmesser Membranspezialisierungen zwischen Axon und paranodalen Schleifen aus. Die Membranchfläche der paranodalen Schleifen weist Reihen linear angeordneter intramembranöser Partikel und Vertiefungen auf. Diese Reihen verlaufen parallel in einem Abstand von konstant 24 Nanometer zueinander. Die Partikel liegen einzeln und weisen eine Größe zwischen 8 und 10 Nanometer auf, wobei ihre Höhe auffallend variiert. Die zwischen den Partikeln linear angeordneten Vertiefungen erscheinen in unseren Präparationen ca. 6 bis 8 Nanometer breit. Da auch die komplementären EF-Flächen der Schwann-Zellen hier ein ähnliches Bild aufweisen, handelt es sich hier hochwahrscheinlich um intramembranöse Partikelketten, deren isoliert liegende Partikel sowohl mit der EF-Fläche als auch mit der PF-Fläche brechen können. Die EF-Fläche des Axons scheint in diesen Entwicklungsstadien noch relativ glatt; das typische Geflechtmuster der differenzierten Axonmembran

Abbildung 31

Nervus Ischiadicus, Hühnchen, 6tägige (a), 10tägige (b und d) und 14tägige (c) Regeneration nach Nervenquetschung, Gefrierätzung

Stadien der Neubildung der myelinären tight Junction Kontaktzone

Abb. a:

Noch vor der Separierung des zu myelinisierenden Axons durch die Schwann-Zelle sind einige, ein Axon umgreifende Schwann-Zellzungen durch kleine focal auftretende tight Junction Kontakte verbunden (Pfeile).

Abb. b:

Bereits in der ersten Wicklung gebildeter tight Junction Kontakt im äußeren Mesaxon (Pfeil).
(AX) Axon

Abb. c:

Multipel und focal auftretende tight Junction Kontakte in der Membran des zukünftigen äußeren Mesaxon.

Abb. d:

Vier tight Junction Stränge durchziehen die Membranen des äußeren Mesaxon einer Markscheide, die erst aus fünf größtenteils noch zytoplasmatischen Wicklungen besteht.

(AX) Axon

Vergrößerungen: a x 46000; b x 26500; c x 25500;
d x 44000;



Abb. 30

Abbildung 30

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 8tägige und 11tägige
Regeneration nach Nervenquetschung im Alter von 4
Wochen, Gefrierätzung

Wiederauftreten von tight Junction Kontakten in den
ersten Stadien der Remyelinisierung

Abb. a:

Längsbruch durch eine regenerierende Markscheide,
die erst aus zwei zytoplasmahaltigen Schwann-Zell-
wicklungen besteht. In den Membranen der aneinander-
liegenden Schwann-Zellwicklungen finden sich in der
Lokalisation, die dem äußeren Mesaxon entspricht,
zahlreiche isoliert auftretende tight Junction Ket-
ten (Pfeile).

Abb. b:

Längsbruch einer remyelinisierenden Faser mit tight
Junction Kontaktzone des äußeren Mesaxon
Zu beachten sind zahlreiche End-zu-Seit Verschmel-
zungen der isoliert aufgetretenen tight Junction
Elemente, so daß eine Zonula occludens entsteht.

Vergrößerungen: a x 7100; b x 23500;

Myelinabbaus und dem Stadium der Schwann-Zellbänder mit den Gap Junctions. Diese Überschneidung mag durch den Hinweis unterstrichen werden, daß die in Abbildung 30a gezeigte Nervenfasern die Parallelfaser zu der in Abbildung 27 darstellt. Das hier (Abb. 30a) zu myelinisierende Axon hat einen Durchmesser von drei Mikrometern. In den Membranen der Schwann-Zelllamellen, die als dünne zytoplasmatische Wicklung das Axon umgeben, lassen sich kurze Ketten intramembranöser Partikel erkennen (Abb. 30a; Pfeile). Während die kürzesten Ketten aus wenigen Einzelpartikeln bestehen, weisen sie sehr bald glatte Konturen auf und stellen somit bereits focale tight Junctions dar. Sei treten multifocal, isoliert auf und sind zunächst irregulär angeordnet (Abb. 30a, 31c).

Mit fortschreitender Remyelinisierung lassen sich immer mehr und längere tight Junction Ketten in den Membranen des äußeren Mesaxons erkennen (Abb. 30b, 31d). Sie sind in den mesaxonalen Membranen überwiegend in Längsrichtung zur Nervenfasern orientiert. Paranodal (unterer Bildrand von Abb. 30b) und in den Schmidt-Lantermanschen Inzisuren (oberer Bildrand von Abb. 30b) nehmen sie einen spiraligen Verlauf an. Durch End-zu-Seit Verschmelzungen der einzelnen Ketten sowie Quervernetzungen bildet sich in diesen Fasern eine weitestgehend kontinuierliche tight Junction Kontaktzone.

Im paranodalen Myelin tauchen ebenfalls kurze tight Junction Ketten in den frühen Stadien der Remyelinisierung auf (6 bis 8 Wicklungen), die bald als längere tight Junction Stränge dem spiraligen Verlauf der paranodalen Schleifen folgen (Abb. 32c und e). Ebenso finden sich bereits nach 5 bis 8 Wicklungen tight Junction Stränge in den inneren Mesaxonen in den Membranen der zytoplasmatischen Inzisuren (Abb. 32a und b). Letztere verlaufen in den remyelinisierenden

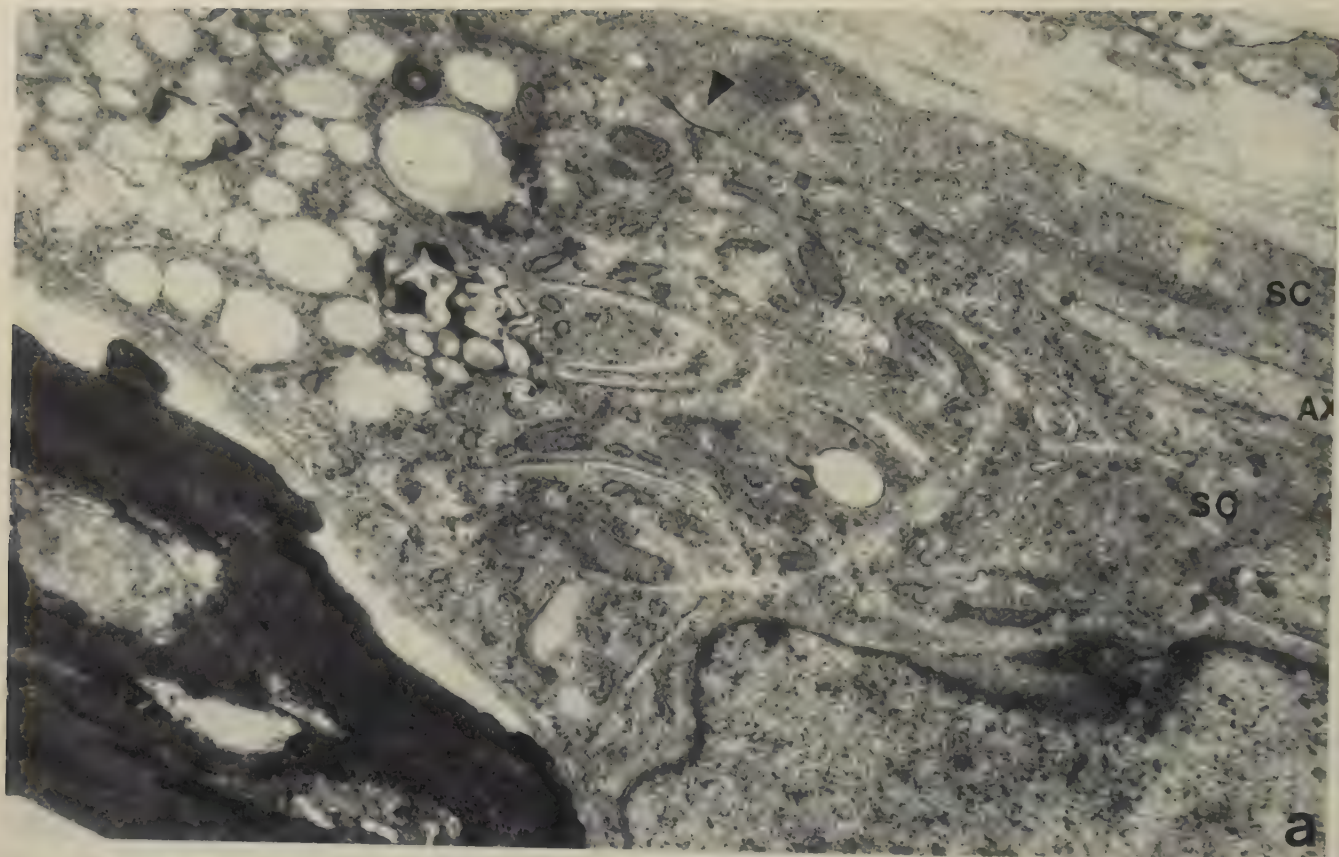


Abb. 29

Abbildung 29

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 6tägige Regeneration
nach Nervenquetschung im Alter von 4 Wochen
Ultradünnschnitt, Uranyl-Blockkontrastierung und
Schnittkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat.
Längsschnitt durch ein Schwann-Zellband mit Gap
Junction Kontakt zwischen zwei Schwann-Zellfortsät-
zen

Abb. a:

Man erkennt den Kern der Schwann-Zelle rechts unten
und einen osmophilen Myelinrest links unten im Bild.
Am rechten Bildrand schiebt sich ein Axonfortsatz
(AX) zwischen die Schwann-Zelle (SC) und einen wei-
teren Schwann-Zellfortsatz (SC).
Der Pfeilkopf markiert einen Gap Junction Kontakt
zwischen den Schwann-Zellfortsätzen, welcher in
Abb. b herausvergrößert ist (Pfeilköpfe). Die Zu-
sammenlagerung der zwei dreischichtigen Einheits-
membranen läßt an einigen Stellen einen "Gap" von
etwa 2 Nanometer erkennen.

Vergrößerungen: a x 19300; b x 98000;

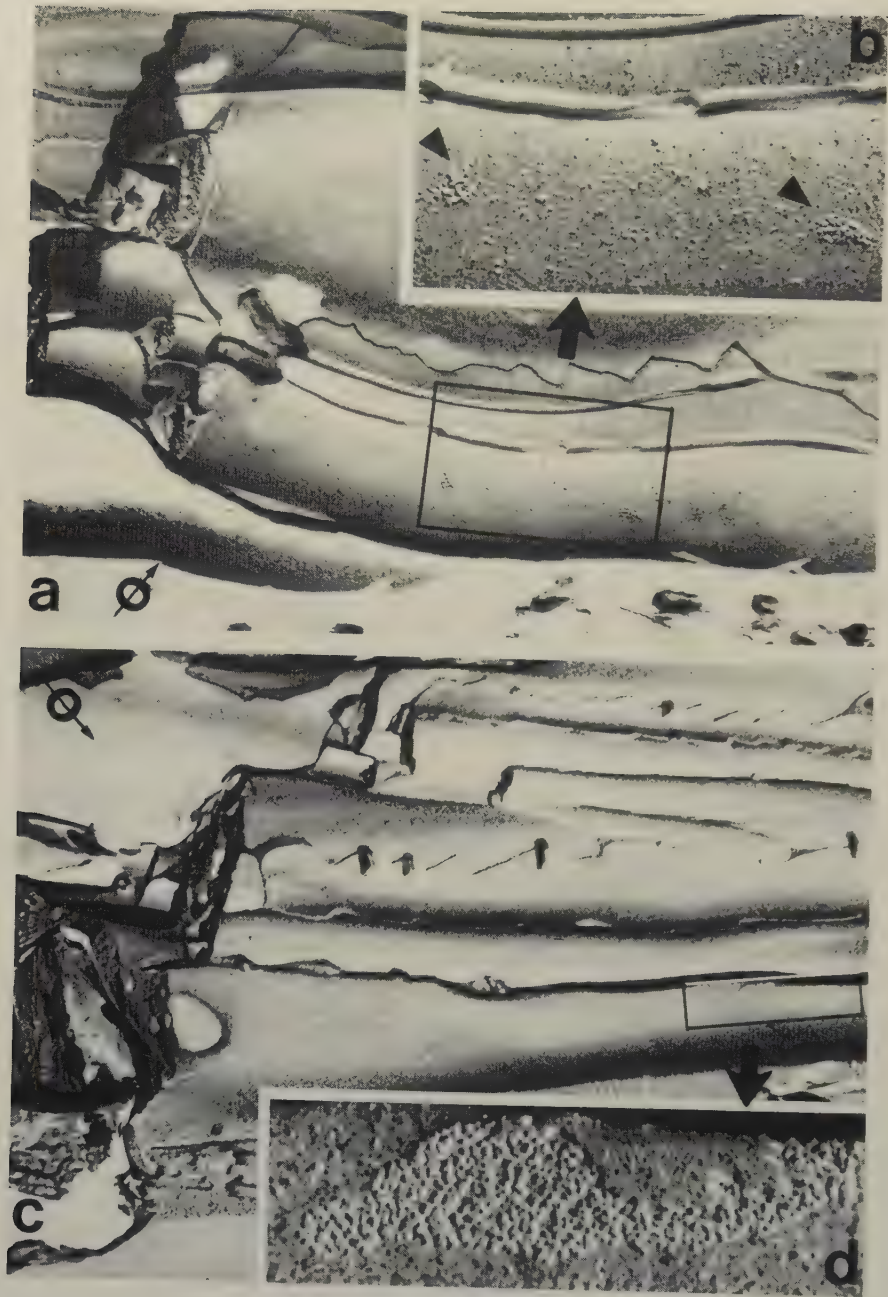


Abb. 28

Abbildung 28

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 4tägige (c und d) und 6tägige (a und d) Regeneration nach Nervenquetschung im Alter von 4 Wochen

Einsprossende Axone in den von Büngnerschen Zellbändern

Abb. a und b:

Zahlreiche dünne Zellfortsätze - größtenteils Axone - durchziehen die Schwann-Zellbänder und werden durch dünne Schwann-Zelllamellen voneinander getrennt. Abb. b zeigt Aggregationen von etwa 20 bis 30 Partikel in den Membranen der Zellfortsätze (Pfeilköpfe). Diese Aggregationen könnten "formation plaques" für Gap Junctions darstellen. Die Größe ihrer Partikel variiert zwischen 6 bis 14 Nanometer.

Abb. c und d:

Größere Gap Junction Spezialisierung in der Membran einer Schwann-Zelllamelle

Am linken Bildrand erkennt man wie die einsprossenden Axonfortsätze von dünnen Schwann-Zelllamellen separiert werden. In Abb. d ist der Gap Junction Kontakt herausvergrößert.

Vergrößerungen: a x 29500; b x 62000; c x 20000;
d x 102 000;

Axon ist am rechten Bildrand angeschnitten. Sein helleres Zytoplasma mit längsorientierten Axonfilamenten und Tubuli hebt es deutlich ab vom dunkleren Zytoplasma der Schwann-Zelle mit seinen Ribosomen, Endoplasmatischem Retikulum, Mitochondrien und Vesikeln. Der Kern einer Schwann-Zelle ist im unteren rechten Bildausschnitt angeschnitten. Die Membranen der Schwann-Zellfortsätze lagern sich an der durch Pfeile markierten Stelle zu einer Gap Junction zusammen. In den Axonmembranen wurden derartige Kontakte noch nicht gefunden.

5.3.5. Membranspezialisierungen in Axonsprossen

Das Gefrierätzungsbild dieser Axone zeigt jedoch Partikelaggregate aus 10 bis 15 Partikeln von einer Größe zwischen 8 und 12 Nanometern (Abb. 28a und b). Sie sind jedoch nicht eindeutig als Gap Junctions einzuordnen, besitzen aber große Ähnlichkeit mit Gap Junction Vorstadien, was noch zu klären bleibt.

5.3.6. Wiederauftreten von tight Junction Kontakten in der frühen Phase der Remyelinisierung

Während sich gegen Ende der ersten Woche der Wallerschen Degeneration keine tight Junctions mehr antreffen lassen, finden sich bereits in der zweiten Woche nach Nervenquetschung tight Junction Partikelketten in den sich aneinanderlegenden Membranen der Schwann-Zellen der Zellbänder, wobei letztere oft von mehreren Axonen durchzogen werden (Abb. 31a). In diesem hier gezeigten Fall läßt sich jedoch noch nicht von einer eindeutigen Remyelinisierung sprechen.

Die ersten Schritte der Markscheidenneubildung, wie Separierung eines Axons durch eine Schwann-Zelle und Umwicklung (Abb. 30a und 31b) durch eine Zytoplasma-
zunge derselben, setzen in der zweiten Woche nach Nervenquetschung in dem untersuchten Nervenabschnitt ein. Dieser Vorgang läuft zunächst noch parallel ab zu dem in diesen Zeitraum hineinreichenden Prozeß des

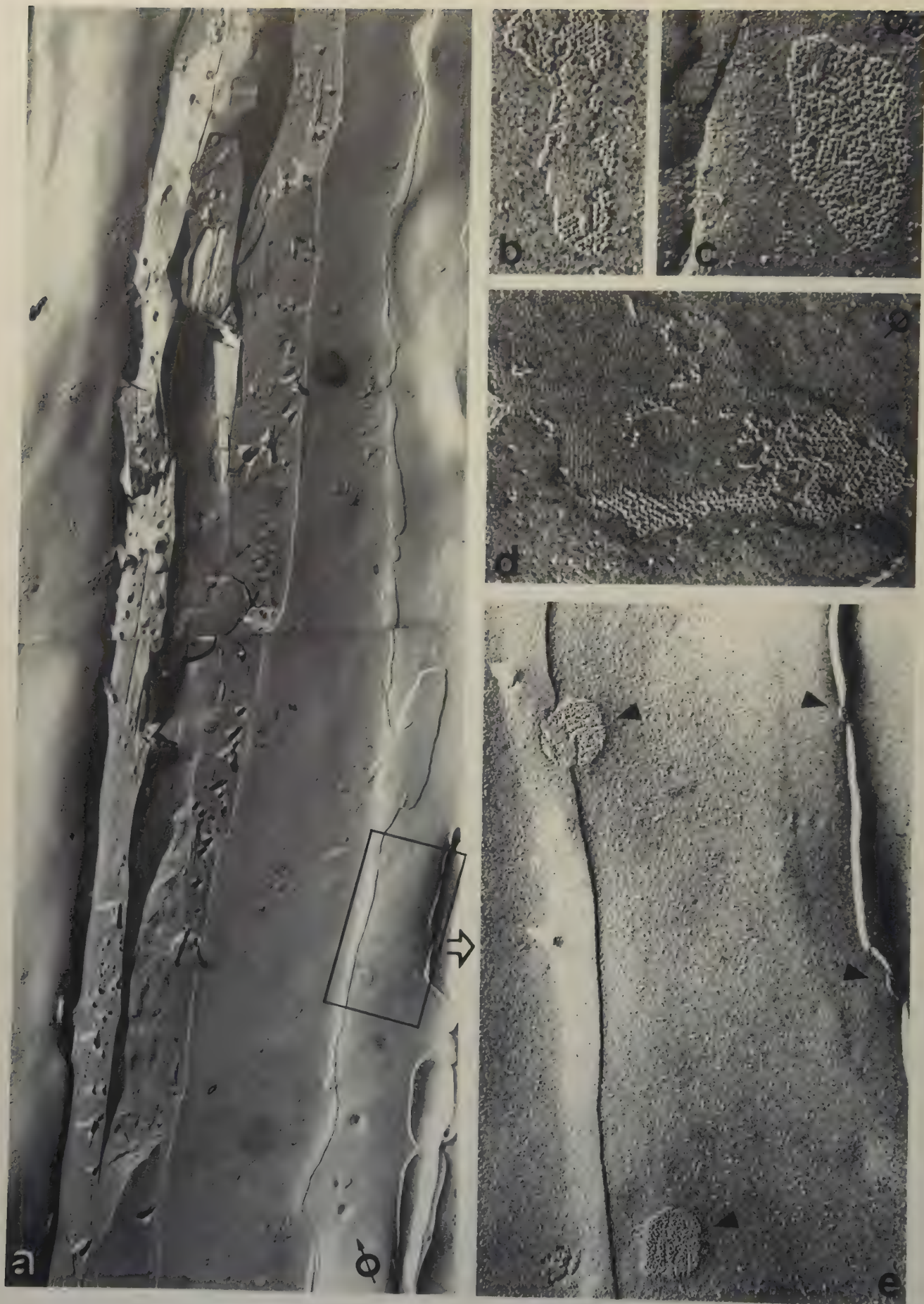


Abb. 27

Abbildung 27

Nervus ischiadicus, 4tägige (b, c und d) und 8tägige (a und e) Regeneration nach Nervenquetschung im Alter von 4 Wochen, Gefrierätzung

Gap Junction Kontakte in den Membranen der Schwann-Zellen der von Büngnerschen Zellbänder

Abb. a und e:

Längsbruch durch ein von Büngnersches Schwann-Zellband. In dem herausvergrößerten Ausschnitt in Abb. e sind Gap Junction Kontakte in den Membranen der Schwann-Zellen durch Pfeiklöpfe markiert.

Die Abbildungen b, c und d zeigen eine Auswahl herausvergrößerter Gap Junction Kontakte der Schwann-Zellen. Innerhalb der Kontakte sind die etwa 8 Nanometer großen Partikel in Untergruppierungen zusammengelagert. Die Partikelanordnung ist nur in einigen Bereichen des Kontaktes hexagonal. Dagegen erscheint die Anordnung der kleinen Vertiefungen der EF-Flächen strenger geordnet.

Vergrößerungen: a x 85000; b x 110000; c x 100 000;
d x 110 000; e x 42000;

gen Bereichen der Kontakte eine hexagonale und in anderen eine eher polygonale Anordnung. Auffälligerweise zeigen die Vertiefungen der EF-Flächen regelmäßig eine höhergradige Ordnung als die Partikel in den PF-Flächen der Kontakte. Bei genauem Hinsehen läßt sich erkennen, daß die Partikel als kleine Ringe beschattet sind, also in ihrer Mitte eine Vertiefung aufweisen. Diese wird als Äquivalentbild eines hydrophilen Kanälchens im Zentrum des Partikels betrachtet, was bereits einleitend bei der Erläuterung der Gap Junction Zellkontakte erwähnt wurde.

Wie vorausgehend berichtet, findet schon nach 4 Tagen eine Einsprossung von feinen Axonsprossen in die Schwann-Zellbänder statt, und es laufen als regenerativ klassifizierbare Prozesse neben den degenerativen der Wallerschen Degeneration ab.

Da sich die Schwann-Zellen der Zellbänder mit dünnen Fortsätzen überlappen, kann eine Zuordnung von Zellfortsätzen zu Axon oder Glia im Gefrierbruch Schwierigkeiten bereiten. Der Bruch entsprechender Fasern legt zahlreiche zylindrische Fortsätze frei - hochwahrscheinlich Axonsprossen -, die durch lamelläre Ausläufer der Schwann-Zellen voneinander getrennt werden.

In den Membranen dieser Schwann-Zellamellen finden sich Gap Junctions wie in Abbildung 28 c und d demonstriert. Es ist jedoch vielfach unmöglich, die Membranen der anhaftenden EF-Flächen einer Schwann-Zelle oder einem Axon sicher zuzuordnen. Die in Ultradünnschnitten gefundenen Gap Junctions fanden sich zwischen den Fortsätzen von Schwann-Zellen, was in Abbildung 29 a und b dokumentiert ist. Dieses elektronenmikroskopische Bild demonstriert neben lamellären Myelinkugeln am unteren Bildrand, vakuolenartige Zwischenstufen des Myelinabbaus, deren Inhalt zum Teil bei der Präparation verloren ging. Ein zwischen den Schwann-Zellfortsätzen einsprossendes



Abb. 26

Abbildung 26

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 6tägige Wallersche Degeneration nach Nervenquetschung im Alter von 4 Wochen, Gefrierätzung

Gap Junction Kontakte zwischen den Schwann-Zellen der von Büngnerschen Zellbänder

Abb. a:

Schräg verlaufender Gefrierbruch durch ein Schwann-Zellband.

Am linken Bildrand erkennt man das Zytoplasma einer vor die Bildebene hinauslaufenden Schwann-Zelle. Es ist von zahlreichen lamellären Körpern ausgefüllt. In der rechten Bildhälfte der Abbildung sieht man auf die Membran einer weiteren, hinter der Bildebene verlaufenden Schwann-Zelle. Wie der herausvergrößerte Ausschnitt in Abb. b zeigt, finden sich in den aneinanderliegenden Membranen der Schwann-Zellen zahlreiche Partikelaggregate, von denen die größeren als Gap Junction Kontakte anzusehen sind (Pfeilköpfe).

Abb. c:

Bruch durch zwei Schwann-Zellen der von Büngnerschen Zellbänder.

Das Zytoplasma der Schwann-Zellen ist von zahlreichen Myelinkügelchen ausgefüllt, die nur noch vereinzelt aus geschichtetem Material bestehen.

In den Ausschnitten d und e sind Gap Junction Kontakte herausvergrößert.

Vergrößerungen: a x 19500; b x 35000; c x 24500;
d x 98000; e x 98000;

zu zahlreichen Myelinkugeln und homogenen Einschlüssen zerfallen.

Wie schon in den vorangegangenen Stadien beschrieben, finden sich auch hier ausgeprägte Variationen der Gap Junction Kontaktgröße.

Diese Unterschiede dürften daher rühren, daß die Schwann-Zellen mit ihrer Proliferation ständig in der Neubildung von Gap Junction Kontakten begriffen sind, über die sie dann untereinander in Verbindung stehen. Diese Verbindungen der Zellen lassen sich durch die in der Abbildung 26 gezeigten Beispiele belegen. Abbildung 26a zeigt in ihrer linken Bildhälfte das Zytoplasma einer vor die Bildebene hinauslaufenden Schwann-Zelle mit zahlreichen Myelinabbauprodukten, während am rechten Bildrand der Kern mit typischen Kernporen einer weiteren, hinter der Bildebene liegenden Schwann-Zelle angebrochen ist. Wie der Ausschnitt 26b zeigt, finden sich in den aneinander liegenden Membranen der beiden Zellen zahlreiche kleine Gap Junction Kontakte (Pfeilköpfe).

Die Lage der Gap Junctions zwischen den Zellen eines Zellbandes kommt ebenfalls deutlich im Schrägbruch der Abbildungen 26 c, d, e zum Ausdruck.

Wie einleitend erwähnt, wird die deutlichste Ausprägung der von Büngnerschen Zellbänder nach einer Woche der Wallerschen Degeneration erreicht. Entsprechend finden sich im Gefrierätzungsbild sehr langgestreckte, einander mehrfach überlappende Schwann-Zellen. Die gap junctionale Verbindung der Zellen wird in den Abbildungen 27a und e dokumentiert, in welchen ein Längsbruch durch ein Schwann-Zellband zu sehen ist. Hierzu sind einige Gap Junction Kontakte in den aneinanderliegenden Membranen der Zellen freigelegt.

Wie eine Auswahl stärker vergrößerter Gap Junctions zeigt (Abb. 27b, c, d), besitzen die Partikel in eini-



Abb. 25

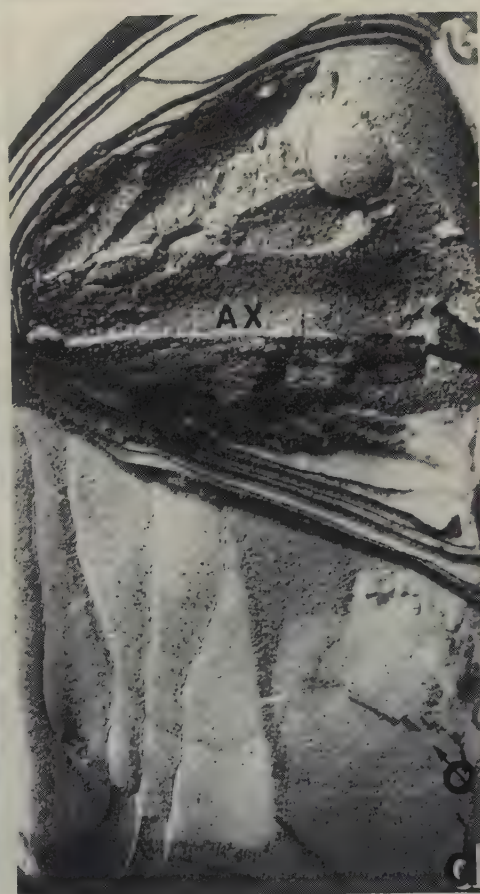
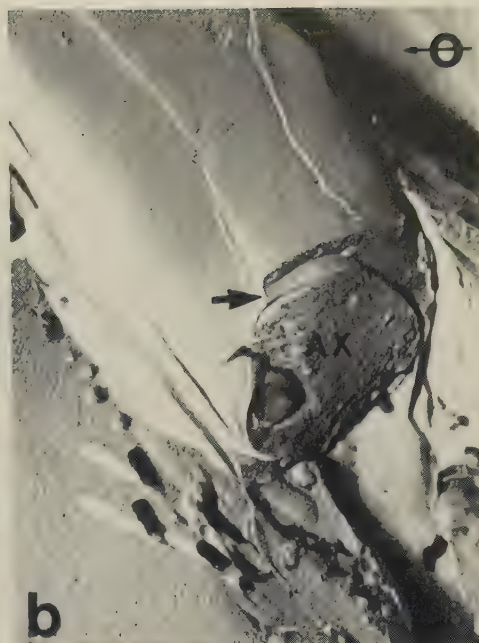


Abb. 31

Fasern oft longitudinal und imponieren im Querbruch der Markscheide als zytoplasmahaltige Sektoren.

Die tight Junction Kontakte erscheinen also zunächst als kurze isolierte Ketten in den Mesaxonen und paranodalen Schleifen, der aus wenigen zytoplasmahaltigen Wicklungen bestehenden Markscheiden. Mit der Kompaktwerdung der Markscheide nehmen diese tight Junction Kontakte die Ausprägung einer Zonula occludens an, die in den Membranen der paranodalen Schleifen aus ein bis zwei, im inneren Mesaxon aus ein bis vier und im äußeren Mesaxon aus zwei bis sechs (selten auch mehr) nebeneinander laufenden tight Junction Ketten besteht.

Mit zunehmender Größe der Markscheide scheint die Ausprägung der myelinären Zonula occludens wieder abzunehmen, so daß in den großen Myelinscheiden mit über 40 Wicklungen ähnliche Verhältnisse anzutreffen sind wie in der Kontrollgruppe des normalen Nerven.

Erwähnenswert erscheint hier ein vergleichsweise häufigeres Vorkommen von kleinen Gap Junctions in den tight Junction Kontaktzonen, die in der normalen Markscheide eine Rarität darstellen.

5.3.7. Regenerierte axo-gliale Kontaktformation

Aufgrund der bekannten Tatsache, daß in remyelinisierten Fasern die Internodien, d. h. die Markscheiden deutlich kürzer sind als in den Kontrollgruppen, lassen sich hier die Kontaktformationen der paranodalen axo-glialen Junctions deutlich häufiger antreffen.

Bereits 14 Tage nach Nervenquetschung finden sich die ersten ausdifferenzierten, regenerierten axo-glialen Kontakte (Abb. 33a).

Hier stößt der zytoplasmahaltige, aufgewickelte Rand der Markscheide - die paranodalen Schleifen - an das

Abbildung 32

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 10tägige (e) und 14tägige (a, b, c und d) Regeneration nach Nervenquetschung, Gefrierätzung

Wiedergebildete tight Junction Kontakte in den Membranen der Mesaxone, Schmidt-Lantermanschen Inzisuren und paranodalen "Schwann-Zellschleifen"

Abb. a:

Einzelner tight Junction Strang in den Membranen des inneren Mesaxon.

Abb. b:

Zwei tight Junction Stränge in den Membranen longitudinal verlaufender Zytoplasmainschlüsse.

Abb. c bis e:

Wiedergebildete tight Junction Kontakte im paranodalen Abschnitt der Markscheide

Auch hier treten die Kontakte zunächst focal isoliert auf (Abb. d und e) bevor sie durch Verlängerung und End-zu-Seit Fusion eine Zonula occludens bilden (Abb. c, kleiner Fasertyp).

(AX) Axon

Vergrößerungen: a x 40000; b x 45000; c x 32000;

d x 45000; e x 25500;

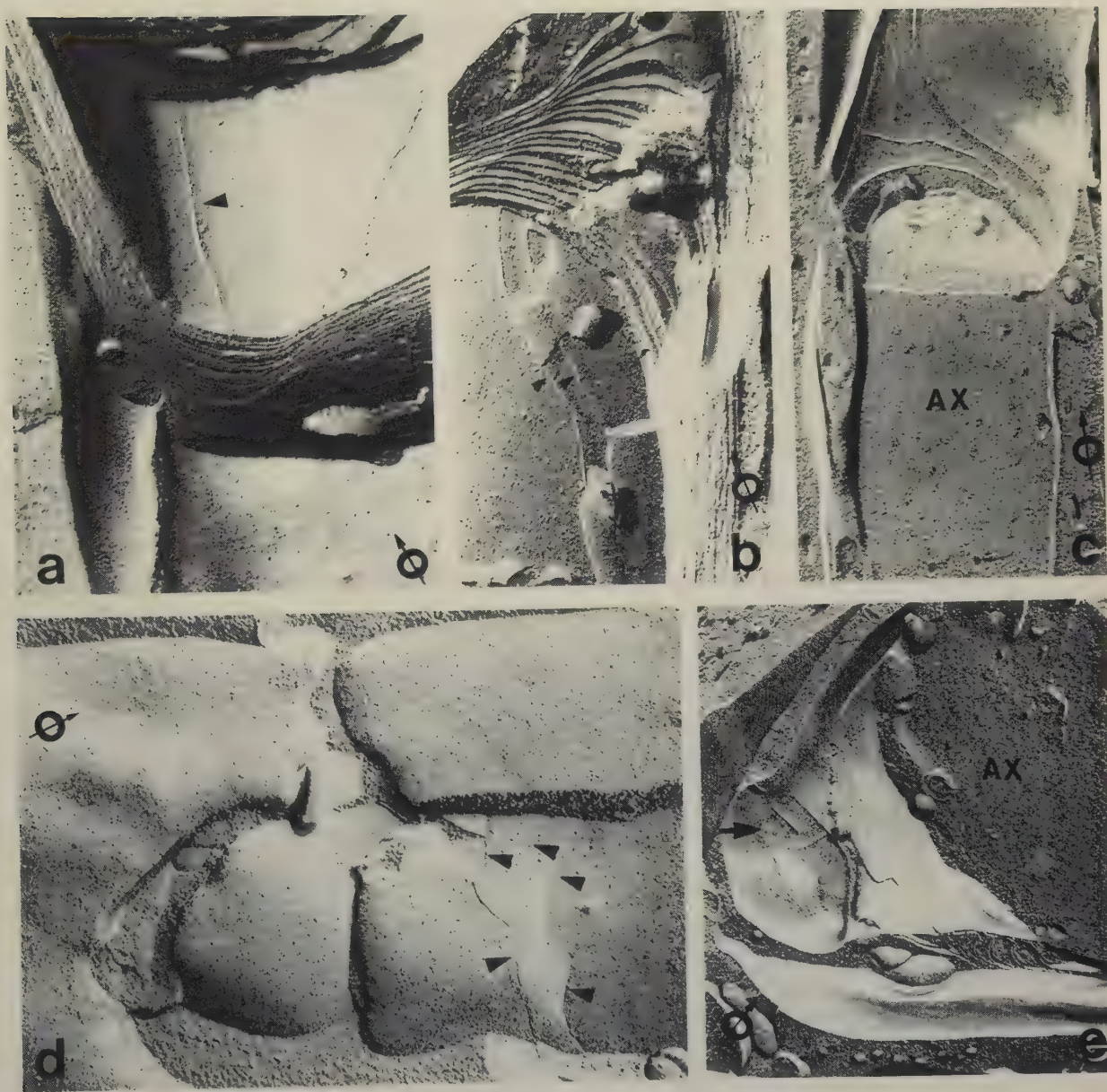


Abb. 32

Axon heran und bildet hier wellenartige Eindruckungen in der Axonmembran . Die Membranen der paranodalen Schleifen weisen in den dem Axon anliegenden Anteilen parallele Reihen mit einzelnen intramembranösen Partikeln und Vertiefungen, die einen Abstand von ca. 25 Nanometer zueinander aufweisen (Abb. 33a; Gruppen langer Pfeile im rechten Bildbereich). Die Orientierung der Reihen steht in einem Winkel von etwa 50 Grad (Variationen zwischen 30 und 70 kommen vor) zum Rand der paranodalen Schleifen.

Die EF-Fläche der Axonmembran weist in gleicher Orientierung und mit gleichem Abstand verlaufende flache Furchungen auf, deren Lage mit der der Partikelreihen der Gliamembranen korrespondiert (Abb. 33a; Gruppe dickerer Pfeile im linken Bildabschnitt). Bei genauem Hinsehen läßt sich eine feine Riffelung ausmachen, die die Furchen miteinander verbindet (Gruppe feiner Pfeile am linken Bildrand von Abb. 33a). Ihre Ausrichtung bildet einen Winkel von ca. 40 bis 60 Grad mit den Furchen. Die Periodizität dieser Riffelung beträgt etwa 10 Nanometer. Furchung und Riffelung grenzen Gruppen von länglich erscheinenden "Partikeln" ab, die in unseren Präparaten nicht näher zu identifizieren waren.

Die axonale PF-Membranfläche läßt ein korrespondierendes Muster nicht erkennen, was möglicherweise auch präparatorisch bedingt sein kann. Hier liegen zahlreiche intramembranöse Partikel in dem Bereich der "Wellenberge" konzentriert (Abb. 33b).

(Die auch hier zwischen den paranodalen Schleifen anzutreffenden tight Junction Kontakte sind mit weißen Pfeilköpfen markiert).

Die axo-gliale Kontaktzone wird also in gleicher Ausprägung wie in der normalen Nervenfasern wieder gebildet.

Abbildung 33

Nervus ischiadicus, Hühnchen, 14tägige (a) und 90tägige (b) Regeneration nach Nervenquetschung im Alter von 4 Wochen, Gefrierätzung

Axo-gliale Membranspezialisierungen im paranodalen Markscheidenabschnitt

Abb. a:

Die axonale EF-Fläche weist eine charakteristische Textur auf. Diese besteht in einer parallelen Furchung (Gruppe kurzer dicker Pfeile). Diese Furchen sind ihrerseits durch noch kleinere Furchungen verbunden, welche mit ihnen einen Winkel von ca. 60 Grad bilden (Gruppe kleiner Pfeile am linken Bildrand).

Die gliale Membran weist in der PF-Fläche der paranodalen Schleifen parallele Reihen intramembranöser Partikel auf (Gruppen langer Pfeile, rechts unten im Bild). Einige Partikel dieser Reihen sind weggebrochen und haben kleine Vertiefungen hinterlassen.

Abb. b:

Die PF-Fläche der paranodal leicht gewellten Axonmembran weist eine Konzentration intramembranöser Partikel in den Bereichen auf, die zwischen anstoßenden paranodalen Schleifen liegen. Die weißen Pfeilköpfe (am oberen und unteren Bildrand) markieren tight Junction Kontakte zwischen den paranodalen Schleifen.

Vergrößerungen: a x 82000; b x 64000;

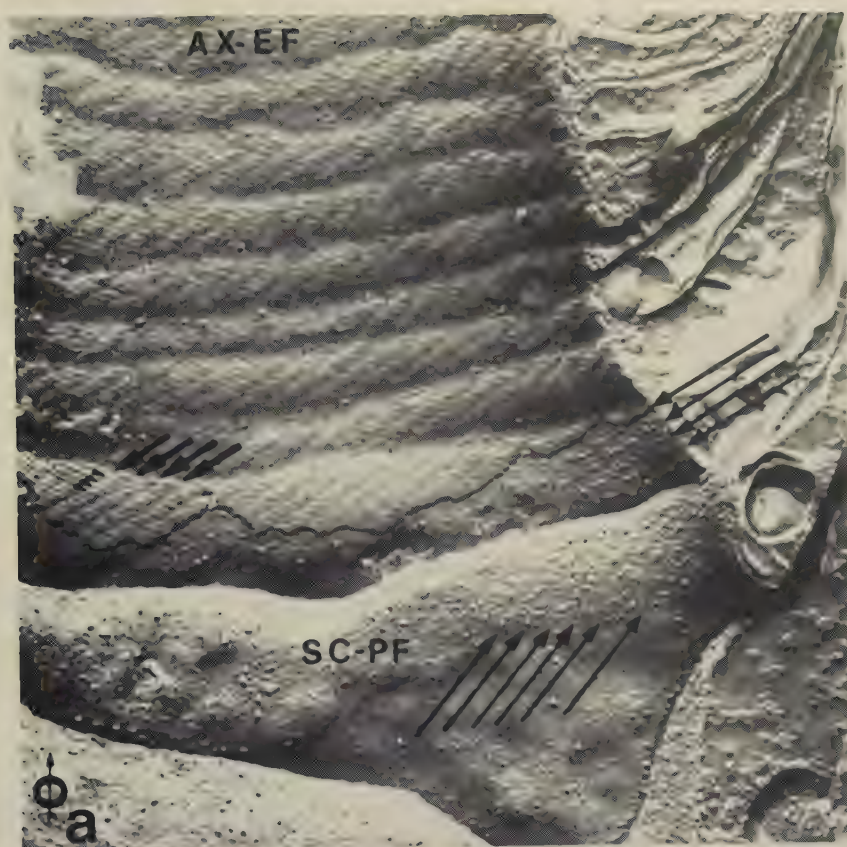


Abb. 33

Die morphologischen Befunde der Gefrierätzungsbilder dieser Region sind in Abbildung 34 zur besseren Übersicht zusammengestellt, wobei hier nicht der Anspruch eines weiteren Modells erhoben werden soll.

Abbildung 34

Schematisierte Zusammenfassung der Gefrierätzungs-
befunde am paranodalen Markscheidenabschnitt

Hier soll kein weiteres Modell dieser noch nicht vollständig aufgeklärten Spezialisierungen aufgestellt werden, sondern es sollen lediglich die Befunde der Arbeit in ihrer dreidimensionalen Zuordnung zueinander in einer Darstellung veranschaulicht werden.

Der Ranviersche Knoten (rechts im Bild) weist eine Häufung unregelmäßig verteilter intramembranöser Partikel auf. An den Stellen, an denen die paranodalen Schleifen der Schwann-Zellen an das Axon stoßen, findet sich in der EF-Fläche des Axons die charakteristische Textur (Bildmitte). Den größeren Furchungen liegen die Reihen intramembranöser Partikel der glialen Membran gegenüber. Die genauen Kontaktverhältnisse der beiden Membranen sind noch unklar. Die paranodalen Schleifen sind untereinander durch tight Junction Kontakte verbunden (Partikelreihen).

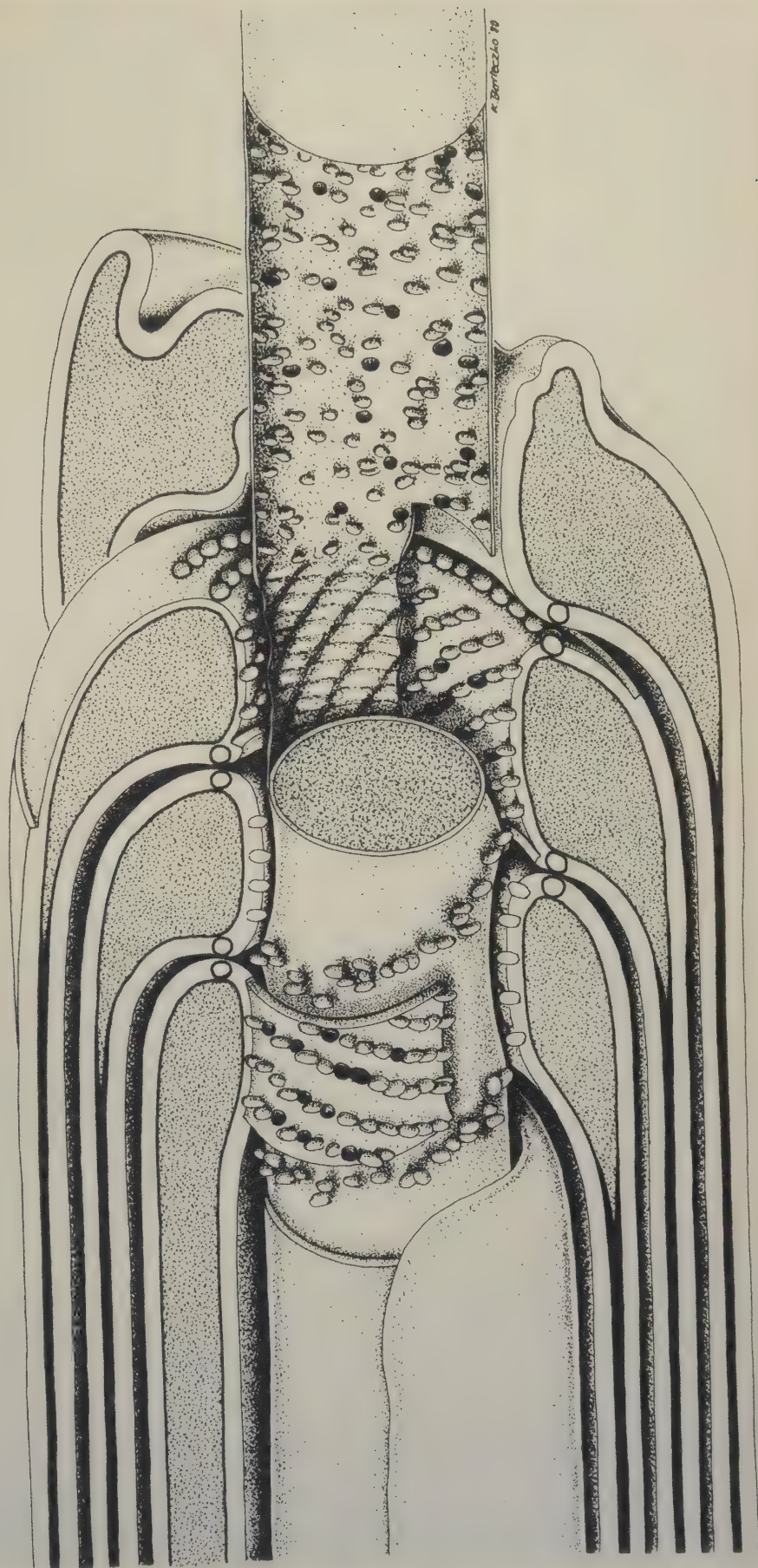


Abb. 34

6. DISKUSSION

6.1. REKAPITULATION DER BEFUNDE

Bei der Rekapitulation der Befunde dieser Arbeit lassen sich die bisher noch unbekannten Zellkontakt-ereignisse in peripheren Markscheiden wie folgt untergliedern und zusammenfassen:

1. Während der Myelogenese der Markscheiden des Nervus ischiadicus des Hühnchens bildet sich eine tight Junction Kontaktzone von dem Ausprägungsgrad einer Zonula occludens in den Mesaxonen, paranodalen Schleifen und zytoplasmatischen Inzisuren aus (Tetzlaff, 1978).
2. Im differenzierten Nerven des 4 Wochen alten Hühnchens findet sich in den kleinen Fasern weiterhin eine ausgeprägte tight Junction Kontaktzone, welche vergleichbar ist mit den Kontaktzonen, die gegen Ende der Bebrütungsperiode in entsprechend großen Fasern bestanden haben. Dagegen haben die großen Fasern mit mehr als 40 Wicklungen nur noch focale tight Junction Kontakte in ihren zytoplasmatischen Rändern aufzuweisen.
3. Mit dem Einsetzen der Wallerschen Degeneration nach Nervenquetschung kommt es zum Abbau dieser tight Junction Kontakte, die sich zu Maculae zusammenlagern und in Vakuolen des Schwann-Zellzytoplasmas aufgenommen werden.
4. Gleichzeitig zu diesem Abbau der tight Junction Kontakte beginnen die proliferierenden Schwann-Zellen der sich ausbildenden Büngnerschen Zellbänder über Gap Junctions untereinander in Kontakt zu treten. Diese Gap junctionale Kopplung der Zellen eines Zellbandes wird bis zur erneuten Markscheidenbildung aufrechterhalten.
5. Mit der Remyelinisierung treten erneut tight Junction Kontakte in den Membranen der Mesaxone, paranodalen

Abbildung 35

Schematisierte Zusammenfassung der Befunde zur Wallerschen Degeneration und nachfolgenden Regeneration.

In der ersten Reihe ist der Ausgangszustand vor der Nervenläsion dargestellt. Um die Lage der tight Junction Kontakte sichtbar werden zu lassen, wurde ein Teil der äußeren Schwann-Zellzunge ausgespart.

In der zweiten Reihe ist das frühe Stadium der Wallerschen Degeneration des distalen Stumpfes skizziert. Die Schwann-Zellen sind von großen ellipsoiden Markballen ausgefüllt. Die tight Junction Kontakte "fließen" in den Membranen zu Maculae zusammen. Bereits jetzt finden sich Gap Junction Kontakte zwischen aneinanderstoßenden Schwann-Zellen.

In der dritten Reihe sind die Momentbilder des endozytotischen Abbauweges der tight Junction Kontakte festgehalten, wie sie etwa 2 bis 4 Tage nach Nervenquetschung gefunden wurden. Neben den charakteristischen Membraneinfaltungen finden sich zahlreiche tight Junction Kontakte in den Membranen zytoplasmatischer Vakuolen der Schwann-Zellen wieder. Die Schwann-Zellen sind weiterhin über Gap Junction Kontakte verbunden.

In der vierten Reihe sind die Gap Junction Kontakte zwischen den Schwann-Zellen der von Büngnerschen Zellbänder als Partikelansammlungen skizziert. In diesem Stadium finden sich bereits zahlreiche einsprossende Axone.

Das Wiederauftreten der tight Junction Kontakte mit einsetzender Remyelinisierung ist in der fünften Reihe durch Partikelreihen in den jungen Markscheiden dargestellt.

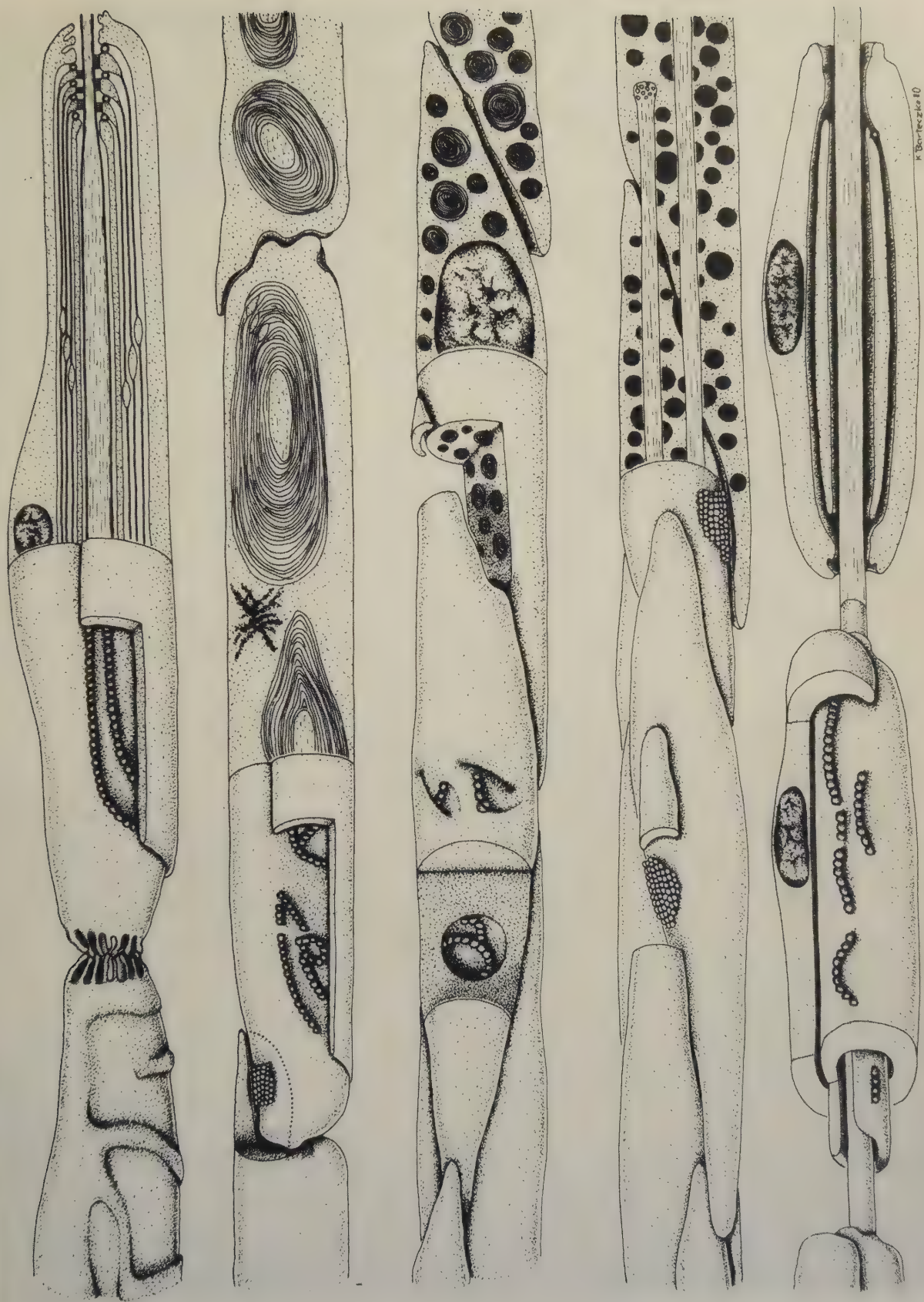


Abb. 35

Schleifen und zytoplasmatischen Inzisuren auf. Die fasergrößenspezifischen Unterschiede der tight Junction Kontaktzonen kommen auch in den remyelinisierten Fasern zum Vorschein (Die Punkte 3 bis 5 sind zur Übersicht in Abb. 35 schematisiert dargestellt).

6. Die schon bei der embryonalen Myelogenese aufgetretene axo-gliale Kontaktzone des paranodalen Abschnittes der Markscheide regeneriert frühzeitig bei der Neubildung der Markscheiden nach Wallerscher Degeneration.

6.2. DIE ENTWICKLUNGSSCHRITTE DER MYELINÄREN ZONULA OCCLUDENS

Die Entwicklung der myelinären Zonula occludens ist durch die Sequenz der folgenden Ereignisse charakterisiert, wie sie in Abbildung 17 schematisiert dargestellt sind:

1. Kurze partikuläre Ketten treten in den Bruchflächen der sich aneinanderlegenden Membranen der äußeren Schwann-Zellwicklungen auf, was bereits mit beginnender Myelogenese in Markscheiden aus 2 bis 5 zytoplasmahaltigen Wicklungen zu beobachten ist.
2. Eine Verlängerung und Vermehrung dieser Kontakte in den Membranen des äußeren Mesaxon wird begleitet vom Auftreten kurzer Partikelketten in den Membranen des inneren Mesaxon und paranodalen Schleifen. Dieser Prozeß findet sich in den Fasern aus etwa 6 bis 8, teils zytoplasmatischen, teils kompakten Schwann-Zellwicklungen.
3. Die Fusion dieser einzeln auftretenden tight Junction Ketten - entweder End-zu-End oder End-zu-Seit - läßt eine weitestgehend kontinuierliche Zonula occludens in den Membranen des zytoplasmatischen Randes kompakter Markscheiden gegen Ende der Bebrütungsperiode entstehen.

Dieses Entwicklungsmuster der tight Junction Kontaktzone unterscheidet sich in wesentlichen Punkten von dem in anderen Geweben, wie der Leber (Montesano et al., 1975), dem Plexus chorioideus (Dermietzel et al., 1977), dem Präimplantationsembryo der Maus (Magnuson et al., 1977) und dem Tubulus Seminiferus der Ratte (Meyer et al., 1977). Nach den Befunden dieser Autoren beginnt hier die Bildung einer Zonula occludens mit dem Auftreten kleiner Partikelgruppen, die sich zu Partikelketten anordnen und schließlich zu Leisten verschmelzen. Die Apposition weiterer Partikel führt nicht nur zur Verlängerung der tight Junction Stränge, sondern auch zu einer Verzweigung, wobei ein Netzwerk von anastomosierenden tight Junction Strängen entsteht. Nach neueren Befunden steht ganz zu Anfang die Bildung von Membraneinfaltungen, in welchen die ersten Partikel auftreten (Luciano et al., 1979).

Weder ein Auftreten von Partikelclusters mit mehr als drei einzelnen Partikeln, noch eine Verzweigung der tight Junction Stränge ist als typisch für die myelinäre tight Junction Kontaktzone anzusehen (Tetzlaff, 1978). Hierin zeichnet sich eine gewisse Sonderstellung der myelinären tight Junction Kontakte ab.

6.3. MORPHOLOGIE DER MYELINÄREN TIGHT JUNCTION ELEMENTE

Wie schon bei der Entwicklung dargestellt, besteht im Gegensatz zu den Zonulae occludentes anderer Gewebe die myelinäre tight Junction Kontaktzone aus Einzelsträngen, die zwar an den Enden miteinander sekundär fusionieren können, jedoch häufig aber auch freien.

In den vorliegenden fixierten Präparaten brechen die tight Junction Elemente in der Regel als Leisten in den PF-Flächen der Membranen, während sie in den EF-Flächen als Furchen erscheinen. Die partikulären

Bausteine der Leisten kommen jedoch an zahlreichen Stellen dadurch zum Ausdruck, daß einige Partikel beim Bruch an der E-Seite haften bleiben und dafür die Leisten kleine Unterbrechungen aufweisen, in denen eine furchenähnliche Vertiefung auszumachen ist.

Dieses Bild entspricht der Morphologie fixierter tight Junction Elemente wie sie für epitheliale Gewebe beschrieben wurde (Mc Nutt und Weinstein, 1973; Staehelin, 1973; 1974). Die Frage, ob es sich beim tight Junction Strang um einen einzigen Strang handelt, der in beide Membranen hineinreicht (Wade und Karnovsky, 1974a), oder ob jeweils ein Partikelstrang von der einen und von der anderen Membran beigesteuert werden (Chalcroft und Bullivant, 1970; Staehelin, 1973; Bullivant, 1976), ist anhand der vorliegenden Präparate nur bedingt zu beantworten, da keine Doppelabdrücke angefertigt wurden. Wahrscheinlich trifft für die myelinäre tight Junction das Doppelstrangmodell zu. Dies lassen Bruchstellen vermuten, in denen eine tight Junction Leiste einer PF-Membranfläche unter einer darauffliegenden EF-Membranfläche der anliegenden Membran verschwindet und der Kontakt sich als Furche fortsetzt. Hier können in der Furche kurze Partikelketten gefunden werden, die in der Ebene der oberliegenden Membran verlaufen und nicht in der Ebene der darunterliegenden PF-Fläche, in der bereits ein Strang freigelegt ist (z.B. Abb. 12b). Vergleichende Doppelabdruck-Gefrierätzungsuntersuchungen an fixierten und unfixierten peripheren Markscheiden von Maus, Ratte, Forelle, Frosch und elektrischem Aal sprechen für das "side-by-side" Modell zweier Partikelstränge (Shinowara et al., 1980). Diese Autoren bestätigten darüber hinaus die partikuläre Natur der tight Junction Bausteine, sowohl in den fixierten Markscheiden

der Maus, wie auch in den unfixierten Markscheiden junger Ratten. In den unfixierten Markscheiden brechen die Partikelketten der tight Junctions sehr häufig mit den E-Seiten der Membranen (Shinowara et al., 1980), was auch in epithelialen tight Junction Kontakten gefunden wurde (Staehelin, 1974). Die fixierungsbedingten Bruchbilder der tight Junction Kontakte als Leisten in den PF-Membranflächen sind in den myelinären Junctions weniger deutlich (Shinowara et al., 1980). Möglicherweise unterstreicht dies eine Sonderstellung der myelinären tight Junctions. Nichtsdestoweniger sind diese Autoren geneigt, die myelinären tight Junctions als Homologe der epithelialen tight Junctions anzusehen.

Die Einordnung der myelinären Junctions zu den tight Junctions wird ebenfalls von anderen Autoren vorgenommen (Schnapp und Mugnaini, 1975; 1978; Sandri et al., 1977; Bertaud, 1978). Aufgrund der Morphologie der tight Junctions Kontakte der vorliegenden Präparate erscheint es nicht angezeigt, einen grundlegenden Unterschied zu den epithelialen tight Junctions zu sehen, wenn auch eine Sonderstellung der tight Junctions peripherer Markscheiden schon aufgrund ihrer Entwicklung und Anordnung nicht zu übersehen ist.

6.4. DIE AUSPRÄGUNG DER MYELINÄREN TIGHT JUNCTION KONTAKTZONE

Die vorliegenden Ergebnisse demonstrieren, daß die Ausprägung der myelinären tight Junction Kontaktzone in den verschiedenen Lokalisationen einer Markscheide, wie den Mesaxonen, paranodalen Schleifen und Schmidt-Lantermanschen Einkerbungen deutliche Unterschiede aufweist. Darüber hinaus variiert die myelinäre tight Junction Kontaktzone in Abhängigkeit von der Fasergröße.

Sowohl die Fasern der fortgeschrittenen Stadien der Myelogenese, als auch die kleinen Fasern der Nerven junger Hühner weisen in den Membranen ihrer äußeren Mesaxone in der Regel drei bis sechs, selten auch bis zu zehn nebeneinanderverlaufende tight Junction Stränge auf, während im inneren Mesaxon oft nur ein bis drei, maximal sechs, tight Junction Stränge angetroffen wurden. In den Membranen der paranodalen Schleifen ist häufig nur ein einzelner kontinuierlicher Strang erkennbar. Variationen der tight Junctions in den unterschiedlichen Lokalisationen der Markscheiden kommen ebenfalls in den Arbeiten von Schnapp und Mugnaini (1975) zum Ausdruck, wobei diese Autoren jedoch in den Membranen der paranodalen Schleifen mehrere tight Junction Ketten aufführen.

Die von Mugnaini und Schnapp mehrfach demonstrierte Fotografie einer peripheren Markscheide (Mugnaini und Schnapp, 1974; Schnapp und Mugnaini, 1975: Fig. 4b; Peters et al., 1976: Fig. 6-17; Raine, 1977: Fig. 19; Schnapp und Mugnaini, 1978: Fig. 8b) stellt eine Faser kleineren Typs dar, in welcher die Interpretation der tight Junction Kontaktzone als Zonula occludens gerechtfertigt erscheint. Fasergrößenspezifische Unterschiede werden in diesen Arbeiten nicht erwähnt und sind erst kürzlich in einer Studie von Shinowara, Beutel und Revel (1980) als ein vorläufiger Befund dargestellt worden. Shinowara et al. weisen außerdem auf Variationen der tight Junction Kontaktzonen in den peripheren Markscheiden verschiedener Spezies hin, wobei die myelinären tight Junction Kontaktzonen in Säugern (Maus, Ratte) deutlich weniger ausgeprägt sind als in Markscheiden von Amphibien und Fischen (Frosch, elektrischer Aal). Oft finden sich nur focale tight Junction Kontakte in den Membranen des äußeren Mesaxons von Säugernerven, was jedoch nicht für myelinisierende

Fasern zutrifft. Dies ergaben orientierende Untersuchungen dieser Gruppe an den Markscheiden neugeborener Ratten, in denen deutlich häufiger und mehr tight Junction Kontakte angetroffen wurden. Diese Beobachtung ist mit den oben dargestellten Befunden am Nervus ischiadicus des Hühnchens gut vereinbar.

Ebenso wie bei Schnapp und Mugnaini (1975; 1978) finden sich in meinen Präparaten die tight Junction Kontakte der peripheren Markscheiden auf die zytoplasmahaltigen Abschnitte der Markscheide begrenzt, was bedeutet, daß sie lediglich in den Membranen der Mesaxone, paranodalen Schleifen und zytoplasmatischen Inzisuren vorkommen. Eine detaillierte, dreidimensionale Darstellung der Zytoplasmaverteilung in der Markscheide läßt sich den Arbeiten dieser Autoren entnehmen (Mugnaini et al., 1977). Dagegen berichten Shinowara et al. (1980), daß auch in kompakten Myelinmembranen peripherer Nerven tight Junction Kontakte mit longitudinalem Verlauf auftreten, was bisher nur in Markscheiden des zentralen Nervensystems bekannt ist und von Dermietzel (1974a) und Reale et al. (1975) in den Markscheiden des Nervus opticus demonstriert wurde (siehe auch Sandri et al., 1977).

Die tight Junction Kontaktzone der Markscheiden des Zentralnervensystems besteht aus bis zu zehn, oft streng parallel verlaufenden, tight Junction Strängen, die meist ohne Anastomosen oder Verzweigungen die Membranen der Mesaxone in Faserrichtung und die der paranodalen Schleifen in spiraligem Verlauf durchziehen (Dermietzel, 1974a; Reale et al., 1975; Schnapp und Mugnaini, 1975; 1978). Diese tight Junction Ketten können in entsprechender Anordnung wie im Mesaxon auch in den Membranen der darunterliegenden kompakten Myelinwicklungen wiedergefunden werden (Dermietzel, 1974, Reale et al., 1975; Tabira et al., 1978). Nach Ansicht dieser Autoren lassen die Kontakte hier in den

Sektoren zwischen der inneren und äußeren Zunge die sogenannte "radiäre Komponente" entstehen, die durch Peters (1961) im Ultradünnschnitt des zentralen Myelin als eine Serie radiär angeordneter Verdichtungen der interperiodischen Linie beschrieben wurde (siehe auch Honjin et al., 1963). Im peripheren Myelin wurde die Existenz einer "radiären Komponente" von Robertson (1960) demonstriert, welche seitdem jedoch nicht mehr bestätigt wurde.

Es ließe sich spekulieren, ob die tight Junction Stränge der longitudinal verlaufenden zytoplasmatischen Einschlüsse der unreifen peripheren Markscheiden (Abb. 14d und e) durch den Verlust des Zytoplasmas der Inzisuren zu einer "radiären Komponente" werden können, worauf die Befunde von Shinowara et al. (1980) hindeuten.

6.5. FUNKTIONELLE BEDEUTUNG DER MYELINÄREN TIGHT JUNCTION KONTAKTE FÜR DIE MORPHOGENETISCHEN PROZESSE DER SPIRALISIERUNG DER MARKSCHEIDE

Neben ihrer Funktion als Diffusionsbarriere, auf welche an späterer Stelle näher eingegangen werden soll, werden tight Junction Kontakte als mechanische Membranhaftstellen angesehen (Wade und Karnovsky, 1974b). So wird den tight Junctions der Markscheiden zentraler und peripherer Fasern eine Stabilisierungsrolle bei der Aufrechterhaltung der Struktur der Myelinspirale der Markscheide zugeordnet (Dermietzel, 1974; Schnapp und Mugnaini, 1975). Tabira et al. (1978) sehen in ihnen wesentliche Stabilisierungspunkte pathologisch geschwollener Markscheiden des ZNS nach der Gabe von Hexachlorophen, da die Myelinlamellen hier aneinander fixiert bleiben, was ebenso McIntosh und Robertson (1976) demonstrierten.

Die schon von Robertson (1958b) dargestellte Beobachtung, daß in hypotonen Lösungen massiv geschwollene Markscheiden im äußeren Mesaxon eine punktförmige Membranverschmelzung bewahren, ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf die heute bekannten tight Junction Kontakte in dieser Lokalisation zurückzuführen (siehe auch die Skizze nach Robertson (Abb. 4) in der Einleitung). Vor dem Hintergrund dieser möglichen Funktion als Membranhafstelle scheint das ausgeprägte Vorkommen in den frühen Stadien der Myelogenese von besonderem Interesse.

Da in den großen Fasern mit mehr als 40 Wicklungen nur noch focale tight Junction Kontakte vorzufinden sind, gibt es guten Grund anzunehmen, daß diese Kontaktzone in den sich entwickelnden Markscheiden früh als kontinuierliche Zonula occludens angelegt wird; mit wachsender Markscheidengröße dürfte sie mehr und mehr einem dynamischen Umbauprozess unterliegen, aus dem sie immer unvollständiger hervorgeht. Dieser Vorgang wiederholt sich in vergleichbarer Weise bei der Remyelinisierung der Markscheide nach Wallerscher Degeneration. Hier kommt es ebenfalls mit Bildung der ersten Wicklungen - teilweise schon bei der ersten - zum Auftreten von tight Junctions in den Membranen des äußeren Mesaxon. Einige Wicklungen später finden sich auch in den Membranen der inneren Mesaxone und paranodalen Schleifen tight Junction Kontakte, wie sie in vergleichbarer Weise schon bei der embryonalen Myelinisierung zu beobachten sind (Tetzlaff, 1978). Die frühe und ausgeprägte Bildung von tight Junction Kontakten in myelinisierenden und remyelinisierenden Fasern weist auf eine spezifische Funktion dieser Kontakte in den jungen, spiralisierten Markscheiden hin, unabhängig, ob die Myelogenese im Milieu des embryonalen Nerven oder mehrere Wochen alten Hühnchen abläuft.

Die Vorstellung einer mechanischen Haftfunktion der Kontakte wird außerdem durch das gleichzeitige Vorkommen desmosomenähnlicher Kontakte gestützt. Desmosomenähnliche Kontakte, die eher Intermediate Junctions (Zonula adherens Kontakten) entsprechen, lassen sich in den Membranen des äußeren Mesaxon, inneren Mesaxon, den äußeren Teilen der zytoplasmatischen Inzisuren, sowie zwischen den paranodalen Schleifen der Markscheiden antreffen (Harkin, 1964; Gamble, 1966; Gamble und Gosset, 1966; Berthold, 1968; Hall und Williams, 1970; Dolapchieva, 1974). Sie finden sich bereits in den frühen Phasen der Myelogenese (Gamble und Gosset, 1966; Dolapchieva und Lierse, 1975) sowie der Remyelinisierung (Nathaniel und Pease, 1963b; Allt, 1972). Diese Kontakte werden ebenso wie die tight Junctions als mechanische Haftpunkte ("regions of stability", Hall und Williams, 1970) zur Aufrechterhaltung der spiraligen Struktur der Markscheide angesehen. Es ist bemerkenswert, daß auch die desmosomenähnlichen Kontakte in den myelinisierenden Markscheiden wesentlich häufiger anzutreffen sind als in den differenzierten Fasern (Gamble und Gosset, 1966; Dolapchieva und Lierse, 1975).

Die Interpretation der Kontakte als Haftstellen könnte Vorstellungsschwierigkeiten im Hinblick auf die bisherigen Modelle der Markscheidenspiralisierung bereiten. Seit dem Spiralisierungsmodell Gerens (1954) wurde in zahlreichen Arbeiten bestätigt, daß die Markscheide aus einer spiraligen Zellwicklung der Schwann-Zelle bzw. Oligodendrogliazelle hervorgeht. Der genaue Spiralisierungsprozeß selbst entzieht sich nach wie vor unserer Kenntnis. So wird in zahlreichen Arbeiten lediglich von einer "spiraligen Verlängerung der Mesaxone" gesprochen, ohne die

morphogenetischen Prozesse näher zu charakterisieren (u. a. Dunn, 1970; Caley und Butler, 1974). Es muß jedoch ein zytoplasmatischer Fortsatz der Schwann-Zelle bei der Bildung dieser Spirale "rotieren" (Cravioto, 1965).

Diskutiert wurden sowohl eine Verlängerung der äußeren Schwann-Zellzunge, die die gesamte Markscheide umkreist (Sjöstrand, 1963; Elfvin, 1968), wie auch eine Verlängerung der inneren Schwann-Zellzunge, die das Axon umkreist (Robertson, 1955; Blechschmidt et al., 1970; Fraher, 1973: allerdings nur in "early stages"). Webster (1971) sprach sich für eine Verlängerung und Rotation der inneren Zunge in der Frühphase der Myelogenese und in der späteren Phase für eine Verlängerung beider Zungen aus, was jedoch im einzelnen nur "poorly understood" ist.

Vor dem Hintergrund einer mechanischen Funktion als Membranhafstellen (Wade und Karnovsky, 1974b) könnte das frühe Auftreten von tight Junctions in den Mesaxonen Vorstellungsschwierigkeiten bei der Annahme eines Verlängerns und Vorschiebens der Schwann-Zellzungen bereiten. Zwar ist ein Gleiten der Kontakte in den fluiden Zellmembranen nicht ausgeschlossen; es müßte jedoch auch für die Zonula adherens Kontakte angenommen werden, um eine freie Verlängerung der Schwann-Zellzungen zu erlauben.

Es ist jedoch nicht einmal notwendig, derartige Gleitvorgänge oder gar dynamische Aufbau- und Abbauvorgänge zu postulieren, da auch bei einer mechanischen Haftfunktion der tight Junctions und desmosomalen Kontakte eine Bildung weiterer Myelinwicklungen möglich ist, wie unten näher erläutert werden soll.

So schlugen Dermietzel et al. (1977b) aufgrund von Gefrierätzungsuntersuchungen für die Myelogenese des ZNS

eine phasische Verlängerung der inneren Zunge vor, die bei jeder Umkreisung erneut Kontakte mit der vorhergehenden, anliegenden Wicklung bildet.

Phasisch müßte dieser Prozeß deshalb ablaufen, da die innere Zunge in der Regel tight Junction Kontakte aufweist und meist der äußeren Zunge gegenüber liegt. Dieses Modell basiert auf den schon während der Myelogenese anzutreffenden tight Junctions in den benachbarten Myelinlamellen, wo sie in korrespondierender Anordnung zur Anordnung der Junctions des äußeren Mesaxon anzutreffen sind (Dermietzel et al., 1977b). In den Markscheiden peripherer Nerven finden sich, insbesondere während der frühen Entwicklung zytoplasmahaltige Markscheidensektoren, die tight Junction Kontakte aufweisen können. Diese longitudinal verlaufenden Inzisuren verschwinden später wieder (nach Webster ab der 6. Wicklung) oder beschränken sich auf die äußeren Myelinwicklungen, während die Markscheide darunter kompakt erscheint.

Da keinesfalls in allen myelinisierenden Fasern des PNS tight Junctions in den benachbarten Myelinwicklungen vorkommen, erscheint es nicht sinnvoll, eine freie phasische Verlängerung der inneren Zunge zu fordern, die bei jeder Umkreisung des Axons tight Junctions mit der benachbarten Myelinwicklung bildet, um zu erklären, weshalb regelmäßig tight Junction Kontakte im inneren Mesaxon angetroffen werden und gleichzeitig weitere Myelinwicklungen gebildet werden können.

Auch bei einem frühzeitigen "Verschluß" der Mesaxone durch tight Junctions und desmosomale Kontakte ist eine Bildung weiterer Myelinwicklungen durch Membraneinbau innerhalb der Spirale vorstellbar.

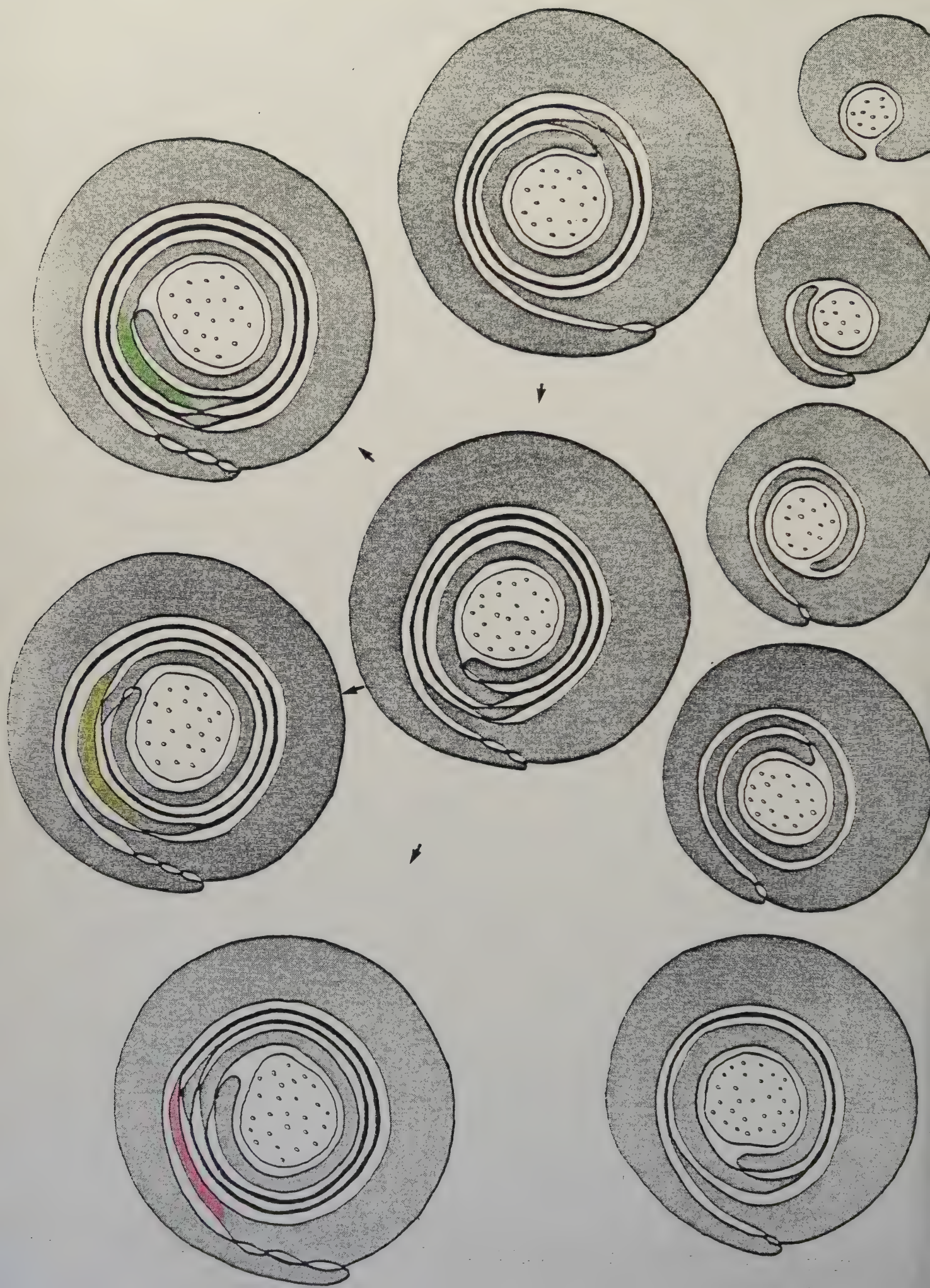
So wäre eine Verlängerung der zytoplasmatischen Lippe, die zuinnerst des äußeren Mesaxons liegt, denkbar, wobei das gesamte Myelinmembransystem rotiert. Ebenso

ließe sich eine entsprechende Verlängerung der äußeren Lippe des inneren Mesaxon vorstellen, verbunden mit einer Rotation der innersten zytoplasmahaltigen und durch tight Junctions abgeschlossenen Schwann-Zellwicklung. Sogar eine longitudinale Zytoplasma-inzisur kommt als Membraneinbaustelle in Frage, wie die unten stehende Skizze (Abb. 36) erläutern soll. Diese Vorstellungen erfordern ein Gleiten der Myelinlamellen gegeneinander, insbesondere in dem äußersten oder innersten interperiodischen Spalt, was aufgrund der Befunde von Hirano und Dembitzer (ZNS-Myelin, 1967) und Friede und Miyagishi (1972) durchaus der Fall sein kann.

Dieses Konzept der Myelinspiralisierung ist gut vereinbar mit dem von Friede (1972) vorgeschlagenen Modell zur Myelogenese, das eine Verlängerung der inneren Lippe des äußeren Mesaxon, als Reaktion auf eine Dickenzunahme des Axons, vorsieht. Hierbei wird allerdings noch von einem freien Gleiten der äußeren Schwann-Zellzunge ausgegangen.

Darüber hinaus wird in dem in dieser Arbeit vorgeschlagenen Modell den dynamischen Turnoverprozessen des Myelinmembransystems Rechnung getragen, wie sie in biochemischen und autoradiographischen Studien gefunden wurden (Gould, 1977). Der starre Blickpunkt auf die freien Enden der Spirale, die Zungen, ist hier verlassen, und es kommen grundsätzlich viele zytoplasmatische Inzisuren als Membrananbaustellen und Umbaustellen in Frage.

Hierbei scheint die innere Lippe des äußeren Mesaxon favorisiert zu sein, was durch die autoradiographischen Studien von Gould (Gould, 1977; als Übersichtsreferat siehe Benjamins und Morell, 1978) unterstützt wird. Gould markierte während der Myelogenese das P₀-Protein und fand dies zunächst im Schwann-Zell



Zytoplasma. Wenig später war die Markierung in der Übergangszone zum Myelin zu beobachten - also im Bereich der inneren Lippe des äußeren Mesaxons (in Abb. 36 markiert). Gibt man wieder normales P_0 -Protein, so sind die nachfolgenden Myelinwicklungen wieder unmarkiert und die markierten Wicklungen weiter innen innerhalb der Myelinspirale anzutreffen.

Abbildung 36

Schematisierte Darstellung der tight Junction Entwicklung in ihrer Beziehung zum Spiralisierungsprozeß der Markscheide.

Hier sollen die Möglichkeiten für ein Wachstum der Doppelmembranspirale aufgezeigt werden, obwohl die Mesaxone und Membranen der Inzisuren durch tight Junction Kontakte verbunden sind. Nach der in dieser Arbeit vorgeschlagenen Theorie findet ein Membrananbau innerhalb der Spirale statt. Dies ist an mehreren Stellen möglich. Wie in den am inneren Bildrand gelegenen Skizzen farbig markiert ist, kommen sowohl eine Verlängerung der Myelindoppelmembran aus einer Inzisor heraus in Frage (gelbe Markierung), als auch eine Verlängerung der inneren Lippe des äußeren Mesaxons (rot) oder der äußeren Lippe des inneren Mesaxons (grün).

Die als dunkle Membranverschmelzungen dargestellten tight Junction Kontakte könnten als Stabilisatoren der spiralgewickelten Myelindoppelmembran dienen und die Wicklungsstruktur aufrechterhalten, während die Myelinlamellen während des Wachstums übereinandergleiten.

6.6. FUNKTIONELLE ASPEKTE DER MYELINÄREN TIGHT JUNCTION KONTAKTZONE ALS PERMEABILITÄTSBARRIERE IN DEN MEMBRANEN DER MESAXONE UND PARANODALEN SCHLEIFEN

Für die Funktion von tight Junction Kontakten in ihrer Ausprägung als Zonula occludens in der Schlußleiste von Epithelien konnte gezeigt werden, daß sie als Permeabilitätsbarrieren fungieren (Farquhar und Palade, 1963; Reese und Karnovsky, 1967; Brightman und Reese, 1969; Goodenough und Revel, 1970; Wade und Karnovsky, 1974). Eine derartige Permeabilitätsbarriere in den Membranen der Mesaxone und paranodalen Schleifen könnte zu einer Trennung des intramyelinären, zwischen den Myelinwicklungen gelegenen Extrazellularräume von dem extramyelinären Extrazellularraum führen (PNS: Mugnaini und Schnapp, 1974; Schnapp und Mugnaini, 1975; Tetzlaff, 1978; Shinowara et al., 1980; CNS: Dermietzel, 1974a). Die Existenz eines intramyelinären Extrazellularräume im PNS-Myelin wurde bereits durch Robertson (1958b) demonstriert. Er rief durch hypotone Lösungen eine "Spaltung" der Myelinlamellen in der Ebene der interperiodischen Linie hervor. Diese Spaltung ist von der Erweiterung des zwischen den Myelinwicklungen gelegenen Raumes gefolgt, der in Routinepräparaten obliteriert erscheint. Da bei der Routinepräparation durch Fixierung, Entwässerung und Einbettung die Identitätsperiode von 18 Nanometer des frischen Myelin auf ca. 13 Nanometer schrumpft, konnte erst in speziellen Einbettungsverfahren mit wässrigen Einbettungsmedien demonstriert werden, daß die "interperiod line" aus einer 2 bis 3 Nanometer breiten Doppellinie besteht (Peterson und Pease, 1972). Diese Doppellinie weist auf einen zwischen ihr liegenden Spaltraum hin. Hierin fanden die Traceruntersuchungen von Revel und Hamilton (1969) eine Bestäti-

gung, die bereits 1969 eine Markierung dieses Spalt-
raumes mit kolloidalem Lanthan vornahmen, der gemein-
sam mit den ihn begrenzenden Membranflächen in diesen
Präparaten als dunkle, ca. 5 Nanometer breite Linie
erscheint. Obwohl der Mechanismus der Schwellung der
Markscheide in hypotonen Lösungen nicht voll verstan-
den ist, könnte die myelinäre Zonula occludens eine
Rolle als Permeabilitätsbarriere spielen, die den
intramyelinären Extrazellularraum als Kompartiment
vom extramyelinären Raum trennt (Mugnaini, 1975;
Tetzlaff, 1978). Es darf jedoch an dieser Stelle
nicht verschwiegen werden, daß auch hypertone Lösungen
eine Vergrößerung der Identitätsperiodenabstände her-
vorrufen können. Blaurock (1971) machte daher weniger
osmotische Kräfte, sondern eher elektrische Ladungen
in den Myelinmembranoberflächen für die Markscheiden-
schwellungen verantwortlich. Außerdem erscheint im
erwachsenen Nervus ischiadicus eine Trennung des in-
tramyelinären Extrazellularraumes zweifelhaft, da
hier nur focale tight Junctions vorkommen und nicht
mehr von einer Zonula occludens wie in der Myeloge-
nese die Rede sein kann (siehe Ergebnisse). Diese
Zonula occludens in myelinisierenden und kleinen Fa-
sern ist jedoch nur als "leaky" bis "intermediate"
zu bezeichnen, sofern man die Einteilung von Claude
und Goodenough (1973) zugrunde legen kann. Allerdings
wurde diese Einteilung in Epithelien aufgestellt, in
denen sich eine Korrelation der Anzahl der tight
Junction Stränge in den Schlußleisten mit dem elektri-
schen transepithelialen Widerstand ergab.
Diese Korrelation ist in einigen Epithelien nicht be-
stätigt worden (Martínez-Palomo und Erlij, 1975;
Møllgård et al., 1976). Außerdem ließ sich die Per-
meabilität des Harnblasenepithels der Kröte durch In-
stillation von Lysin deutlich steigern, ohne daß

Unterschiede der Ultrastruktur faßbar waren. (Martínez-Palomo und Erlij, 1975). Die Anzahl der tight Junction Stränge dürfte somit nicht der einzige Faktor sein, der für die Funktion als Permeabilitätsbarriere ausschlaggebend ist.

Eine mögliche funktionelle Regulationsfähigkeit des einzelnen tight Junction Stranges sowie die unterschiedliche Ausprägung der myelinären tight Junction Kontaktzone in den großen und kleinen Nervenfasern erklären möglicherweise die widersprüchlichen Ergebnisse von Traceruntersuchungen, welche außerdem auf speziesspezifische Differenzen zurückzuführen sein dürften. So dringt kolloidales Lanthan nur in sehr unregelmäßiger Weise einige Wicklungen weit in den intramyelinären Extrazellulärraum ein (Revel und Hamilton, 1969). Hall und Williams (1971) zeigten ein ähnlich unregelmäßiges Eindringen in den interperiodischen Spalt für Lanthan La^{3+} nitrat, was durch Schwellung der Markscheide in hypotonen NaCl-Lösungen noch wesentlich erleichtert wird. Angesichts der fasergrößenspezifischen Unterschiede der tight junctionalen "Barrieren" bleiben diese Befunde im Hinblick auf die Fasergrößen zu überprüfen, um die Hypothese der Isolation des intramyelinären Extrazellulärraumes näher zu beleuchten.

Ferritin (Hall und Williams, 1971) sowie Ruthenium Rot (Luft, 1971) vermögen nicht und Peroxidase (Klemm, 1970) allenfalls nur kurz in den intraperiodischen Spalt der peripheren Markscheide einzudringen. Die von Mugnaini und Schnapp (1974) aufgestellte Hypothese, daß die Trennung des intramyelinären Extrazellulärraumes durch tight Junctions eine Rolle spielt bei der Verhütung von Autoaggressionsphänomenen gegen körpereigenes Myelin, scheint nach morphologischen Kriterien für die großen Markscheiden des Nervus ischiadicus des Hühnchens nicht zuzutreffen.

Dagegen weisen in den myelinisierenden und kleinen Fasern die kontinuierlichen tight Junction Kontaktzonen auf eine Trennung des intramyelinären vom extramyelinären Extrazellularraum hin. Dies steht in Einklang mit den Befunden von Towfighi und Gonatas (1977), die in myelinisierenden Ischiasnerven junger Ratten weder Meerrettichperoxidase (MG 40000) noch Mikroperoxidase (MG 1900) in den interperiodischen Spalt eindringen sahen. Es ließen sich Konsequenzen für die Physiologie der Markscheide vermuten, der seit langem eine Isolatorfunktion zugeordnet wird. Allerdings ist die Markscheide kein idealer Isolator, sondern sie besitzt lediglich einen sehr hohen elektrischen Widerstand bei vergleichsweise sehr geringer Kapazität (Huxley und Stämpfli, 1949; Tasaki, 1952). Bei der Erregungsleitung fanden sich nur im Bereich der erregbaren Axonmembran des Ranvierschen Schnürringes aktive Ionenverschiebungen, während im internodalen Markscheidenabschnitt lediglich passive Ladungsverschiebungen gemessen wurden, was zur Theorie der "saltatorischen Erregungsleitung" führte. (Huxley und Stämpfli, 1949; als Übersichtsreferat: Tasaki, 1959; Rogart und Ritchie, 1977). Es ließe sich hier spekulieren, inwieweit die großen Fasern allein aufgrund des langen Diffusionsweges durch den spiralig gewickelten Extrazellularraum der Markscheide genügend großen Widerstand aufbauen, während die kleinen Fasern sich hierzu einer ausgeprägten Diffusionsbarriere "bedienen".

6.7. ABBAU DER TIGHT JUNCTION KONTAKTE BEI WALLER-SCHER DEGENERATION

Mit der Reaktion der Markscheide auf Axondurchtrennung kommt es im Laufe der ersten beiden Tage der

Wallerschen Degeneration zu einer Umorientierung der tight Junction Ketten zu Maculae ähnlichen Fasciae occludentes, welche schließlich in vesikulären Gebilden im Zytoplasma der Schwann-Zellen gefunden werden konnten.

Der erste Abbauschritt, die Umorientierung zu Fasciae occludentes, findet sich ebenfalls bei einigen Zellumorientierungen während der Embryonalentwicklung. So geben Neuroektodermzellen ihre typischen Zonulae occludentes auf, und es finden sich nach der Neurulation nur noch kleine tight Junction Stränge, die als Reste der Zonulae occludentes angesehen werden (Decker und Friend, 1974). Vergleichbares fand sich auch an den vom Primitivstreifen aus einwandernden Mesodermzellen (Revel et al., 1973). Das Zusammenfließen von tight Junction Ketten spricht für eine Fluidität der Kontakte in den Membranen, wobei diese Fluidität schon vor der Reaktion der Schwann-Zellen auf Axondurchtrennung bestanden haben kann.

Der zweite Abbauschritt, die endozytotische Aufnahme von tight Junctions, fand sich in vivo im Darmepithel der Ratte (Staehelin, 1973) sowie in vitro in enzymatisch isolierten, exokrinen Pankreaszellen (Staehelin, 1974), sowie in Plexus chorioideus Zellen (Dermietzel et al., 1977).

Ein endozytotischer Abbauweg wird ebenfalls für andere Zellkontakte diskutiert wie für Gap Junctions, die in vivo in zytoplasmatischen Vakuolen angetroffen wurden (Merk et al., 1973; Amsterdam et al., 1976; Larsen, 1977; Larsen et al., 1979). Für Desmosomen fand sich in vitro, nach Trennung der Zellen, eine endozytotische Aufnahme der Desmosomenhälften (Overton, 1975).

Wahrscheinlich wird die Einschleusung der tight Junction Zellkontakte in intrazytoplasmatische Vakuolen von einer

lysosomalen "Digestion" gefolgt. Im folgenden Stadium waren tight Junctions nicht mehr anzutreffen. Die aktive Aufnahme der Kontakte in die Schwann-Zellen überrascht nicht angesichts der Fähigkeit der Schwann-Zellen, ihre Markscheiden zunächst als größere Markballen aufzunehmen und sie anschließend weiter abzubauen. Der Markscheidenzerfall setzt bei der Waller'schen Degeneration mit einer Retraktion des paranodalen Myelins (Williams und Hall, 1971a) und einer Erweiterung der Schmidt-Lantermanschen Inzisuren ein (Webster, 1965; Hall und Williams, 1970). Diese sich erweiternden Inzisuren stellen die Orte dar, an denen die Markscheide zu den primären Ellipsoiden segmentiert (u. a. von Büngner, 1891; Ramon y Cajal, 1928; Hall und Williams, 1970). Bei diesem Prozeß schrieben Hall und Williams (1970) den desmosomalen Kontakten, die in den Inzisuren beschrieben wurden, eine besondere Stabilisierungsrolle zu. Eine entsprechende Stabilisierung der Markscheide bewirken möglicherweise auch die tight Junction Kontakte in den Myelinlamellen zentralnervöser Markscheiden (Tabira et al., 1978) bei Schwellung in der Frühphase einer Degeneration. Eine mögliche Beteiligung der tight Junction Kontakte an einer Stabilisierung der Inzisuren in der frühen Phase der Degeneration sei dahingestellt. Wichtiger erscheint die Möglichkeit, daß die Membranen der Inzisuren an den Orten der Kontakte bei der endozytischen Aufnahme der Kontakte zusammenfließen können, was zu der bekannten Segmentierung der Markscheide führt.

6.8. TEMPORÄRES AUFTRETEN VON GAP JUNCTIONS IN DEN SCHWANN-ZELLBÄNDERN

Wie die oben dargelegten Befunde zeigen, treten Gap Junctions in den aneinanderliegenden Membranen der Schwann-Zellen auf, was in der Phase des Markscheiden-

zerfalls, der Proliferation und Umorientierung zu den von Büngnerschen Schwann-Zellbändern geschieht. In normalen Markscheiden des Nervus ischiadicus vom Hühnchen, sowie nach dreimonatiger Regeneration konnten Gap Junctions nur in einigen wenigen Fällen angetroffen werden, wo sie gemeinsam mit den bereits beschriebenen tight junctionalen Kontakten in den mesaxonalen und paranodalen Membranen vorkommen (siehe Befund: Abb. 11 c). Die Rolle dieser Gap Junctions zwischen den Ausläufern ein und derselben Zelle ist unklar. Möglicherweise finden hier kleine isolierte Zytoplasmaanteile der Schwann-Zelle Anschluß an den Hauptteil des Zellkörpers. "Reflexive Gap Junctions" wurden auch von Herr (1976) und Larsen (1977) beschrieben, ohne daß konkrete Angaben zu ihrer Funktion gemacht werden konnten. Gap Junctions zwischen Schwann-Zellen wurden erstmals kürzlich von Rosenstein und Brightman (1979) nach Transplantation von Schwann-Zellen und Ganglienzellen in das ZNS beobachtet. Die Fähigkeit der Schwann-Zellen, Gap Junction Kontakte zu bilden, wurde mit der Verlagerung in das Milieu des ZNS in Zusammenhang gebracht. Es ist bekannt, daß die myelinbildende Oligodendroglia des ZNS spezialisierte Kontakte wie Gap Junctions bilden kann, welche sowohl in perikaryon-nahen Abschnitten vorkommen können (Dermietzel et al., 1978), wie auch in der Markscheide selbst (Sandri et al., 1977; Dermietzel et al., 1978; Schnapp und Mugnani, 1978). Wie in den Befunden gezeigt, haben Schwann-Zellen offenbar auch im peripheren Nervensystem die Fähigkeit zur Gap Junction Bildung, von der sie in bestimmten Situationen Gebrauch machen. Eine Transformation der Schwann-Zellen durch das Milieu des ZNS findet also in dieser Beziehung wohl nicht statt. Die den Schwann-Zellen eng verwandten Mantelzellen der Spinalganglien bilden auch unter "normalen" Be-

dingungen Gap Junctions untereinander (Elfvin und Forsman, 1978).

Gap Junctions werden als das ultrastrukturelle Korrelat (Pappas et al., 1971; Revel et al., 1971) der schon lange vor ihnen elektrophysiologisch identifizierten low-resistance Junctions angesehen (siehe Einleitung).

Morphologisch ließen sich Gap Junctions im blockkontrastierten Ultradünnschnitt durch eine septalaminäre Schichtung von den pentalaminär geschichteten tight Junctions unterscheiden, mit denen sie lange verwechselt wurden (Rosenbluth, 1965; Brightman und Reese, 1969). Diese septalaminäre Schichtung weist auf einen ca. 20-30 Å breiten Spalt zwischen den Membranen des Kontakts hin, was zu der Namensgebung "Gap Junction" führte (Revel et al., 1967). Dieser Spalt ist für Marker des Extrazellularraums zugänglich (Revel und Karnovsky, 1967). In Flachschnitten tritt ein quasi hexagonales Muster von ca. 8 Nanometer großen, dicht gelagerten Einheiten auf (Robertson, 1963; Revel und Karnovsky, 1967; Benedetti und Emmelot, 1968; Zampighi und Robertson, 1973; Gilula, 1977). Diesen Einheiten entsprechen die teils hexagonal, teils polygonal angeordneten Partikel in den Gefrierbrüchen der Kontakte (Kreutziger, 1968; Chalcroft und Bullivant, 1970; Goodenough und Revel, 1970; Friend und Gilula, 1972; Gilula, 1977). Die Partikel weisen eine kleine zentrale Vertiefung auf (u. a. Mc Nutt und Weinstein, 1970; Peracchia, 1977), die einem kleinen 1 bis 2 Nanometer breiten hydrophilen Zentrum in den negativ kontrastierten Ultradünnschnitten der Partikel entspricht (Zampighi und Robertson, 1973). Die Einheiten werden also als Röhrchen angesehen, die gemeinsam mit jeweils einem Röhrchen der benachbarten Membran ein Zell-zu-Zell-Kanälchen bilden (u. a.

Payton et al., 1969). Neben einem Übertritt von Ionen ließ sich eine interzelluläre Passage von intrazellulär applizierten Farbstoffmolekülen bis zu einem Molekulargewicht von etwa 1100 nachweisen und mit dem Vorkommen von Gap Junctions bzw. "low-resistance-Junctions" korrelieren (Payton et al., 1969; Slack und Palmer, 1969; Johnson und Sheridan, 1971; Bennett und Goodenough, 1978). In kombinierten Zellkulturen von Zellen mit genetischem Defekt und ihrem Wildtyp ist eine Kompensation des Defekts zu beobachten gewesen, sofern diese Zellen über Gap Junctions in Kontakt treten (Gilula et al., 1972; Pitts, 1977). Es handelt sich jedoch nur um kleine Metaboliten des Stoffwechsels, die via Gap Junctions von Zelle zu Zelle gelangen können wie Nucleotide (Pitts, 1977), radioaktiv markierte Zucker und Aminosäuren (Rieske et al., 1975; zur Übersicht siehe Bennett und Goodenough, 1978). Angesichts dieser Passage von Ionen und kleinen Molekülen und der weiten Verbreitung von Gap Junctions in elektrisch erregbaren und vor allem auch nicht erregbaren Geweben - insbesondere in Embryonen - schrieben zahlreiche Autoren diesen Kontakten eine wesentliche Funktion bei der interzellulären Kommunikation zu (u. a. Loewenstein, 1966; Bennett, 1973; Gilula, 1977; Bennett und Goodenough, 1978). Hierbei werden sie als ein wichtiges Element zur Kontrolle und Koordination von Zellproliferations-, Zellorientierungs- und Zelldifferenzierungsprozessen, sowie von Zellaktivitäten diskutiert (Potter et al., 1966; Loewenstein und Penn, 1967; Furshpan und Potter, 1968; Sheridan, 1968; Bennett und Trinkaus, 1970; Bennett, 1973; Mc Nutt und Weinstein, 1973; Loewenstein, 1973; Hayes und Roberts, 1975; Blackshaw und Warner, 1976; Gilula, 1977). Bei einer Reihe von Zellproliferations-, Umorientierungs- und Differenzierungsprozessen kommt es oft nur vorübergehend zu einer

Gap junctionalen Kopplung, was auf ihre besondere Funktion bei diesen Prozessen hinweist (Gilula et al., 1976). Im embryonalen Nervensystem fanden sich temporäre Gap Junctions zwischen Neuroblasten von Spinalganglien (Pannese et al., 1977), sowie in den Netzhäuten des Menschenembryo (Fisher und Linberg, 1975), des Hühnchen (Fujisawa et al., 1976a) und von *Xenopus laevis* (Dixon und Cronly-Dillon, 1977). In der Retina fanden sich Gap Junctions zwischen den Zellen der Proliferationszone, jedoch nicht zwischen den postmitotischen sich differenzierenden Neuronen, wo erst später wieder eine besondere Art von Gap Junctions auftritt (Fujisawa et al., 1976a, b).

Eine mögliche Beteiligung der Gap Junctions an der Kontrolle der Proliferationsvorgänge wird hier vermutet. Die Embryonalentwicklung dieser Organe ist ebenso durch Zellproliferations-, Zellmigrations- und Differenzierungsprozesse charakterisiert, wie die Bildung der Schwann-Zellbänder bei der Wallerschen Degeneration, in denen sich ebenfalls temporäre Gap Junctions finden. Die Wallersche Degeneration stellt neben der Embryonalentwicklung der Nerven eine besondere Phase der Schwann-Zellproliferation dar. Während für die Proliferation der Schwann-Zellen in sich entwickelnden Fasern eine spezifische Membrankomponente des Neuriten verantwortlich zu sein scheint (Salzer et al., 1980), ist die Proliferation der Schwann-Zellen bei der Wallerschen Degeneration komplexer. Bei der letzteren sind außerdem das Ausmaß der vorhergehenden Myelinisierung, wie auch eine direkte Irritation der Schwann-Zell-Neurit-Einheit mitbestimmend (Salzer und Bunge, 1980). Da sich über einige mitogene Substanzen, wie dibutyryl-cAMP, eine Stimulation der Schwann-Zellproliferation *in vitro* erzielen läßt (Raff et al., 1978), erscheint es interessant, inwieweit derartige Substanzen bei der Proliferation

der Schwann-Zellen bei Wallerscher Degeneration eine Rolle spielen. Ein interzellulärer Übertritt von cyclischem AMP durch Gap Junctions wurde in Herzmuskulatur nachgewiesen (Tsien und Weingart, 1976) und eine Rolle der Gap Junctions bei der Koordinierung dieses Proliferationsprozesses z. B. über cAMP erscheint denkbar. Nach Nervenquetschung wurden Steigerungen der Cyclo-AMP Konzentration im distalen Stumpf beschrieben (Appenzeller und Palmer, 1972). Im Rahmen der Proliferation der Schwann-Zellen werden die Zellen, die zur Phagozytose des Myelin erforderlich sind, bereitgestellt. In vitro Untersuchungen haben eindeutig die Fähigkeit der Schwann-Zellen zur Phagozytose von Axonmembranen und zum Abbau ihrer Markscheiden, ohne Dazutreten von Makrophagen, demonstriert (Salzer und Bunge, 1980; Salzer et al., 1980). Mit der Bildung der Schwann-Zellbänder schaffen die Schwann-Zellen ein geeignetes Terrain (Cajal) für die neu einsprossenden Axone. Der genaue Leitmechanismus ist bisher noch unverstanden. Wahrscheinlich spielen als Leitstruktur Membranspezialisierungen eine Rolle, sei es als Rezeptoren für chemische Gradienten des Milieus (im Sinne des "Neotropismus") oder für fixe Moleküle in der Oberfläche der Leitstruktur (entsprechend dem Konzept der "contact guidance" von P. Weiss), oder sei es als temporäre spezifische Zellkontakte wie Gap Junctions, die einen interzellulären Informationsaustausch ermöglichen.

Die Partikelaggregationen in den Membranen von Axonsprossen bedürfen noch einer weitergehenden Analyse. Ähnlichkeit mit Gap Junction Vorstufen (Johnson et al., 1974) besteht, und es stellt sich die Frage nach einem möglichen Rückkopplungsweg zwischen Peripherie-Axon-sproß-Neuron via Gap Junctions.

Transitorische Gap Junctions wurden während der Entwicklung des visuellen Systems in *Dahnia* beschrieben (Lopresti et al., 1974). Eines der bündelweise auswachsenden Optikusneurone bildet Gap Junction Kontakte mit korrespondierenden Neuronen der optischen Lamina, welche die erste Schaltstelle darstellen. Bei der Katze fanden sich Gap Junction Kontakte zwischen axonalen Wachstumskolben und den Zielneuronen im Subfornicalorgan (van Buren et al., 1977).

Die Gap Junction Kontakte zwischen den Schwann-Zellen dürften bei der Bildung der Leitstruktur aus Schwann-Zellbändern von Bedeutung sein. Die Schwann-Zellbänder könnten als eine spezifische Leitstruktur angesehen werden, da die Axone an ihnen entlang auswachsen (O-Daly und Imaeda, 1967) und sie außerdem auch später in ständigem Kontakt zum Axon in Form der Markscheide verbleiben. Hierdurch unterscheiden sich diese Schwann-Zellbänder von den übrigen Strukturen, die ebenfalls als Leitstrukturen diskutiert werden, wie den endoneuralen Bindegewebsfasern und den Basalmembranen der Schwann-Zellen (Nathaniel und Pease, 1963b; Thomas, 1964a). Diese endoneuralen Röhren "begrenzen" den Raum, in dem die Schwann-Zellproliferation und Anordnung zu Zellsträngen stattfindet (Thomas, 1964a). Eine Orientierung der Schwann-Zellen an diesen Röhren ist durchaus denkbar, was auch in vitro als Anlagerung von Schwann-Zellausläufern an Basalmembranen beobachtet wurde (Salzer et al., 1980). Bei der Wallerschen Degeneration in vivo können sich jedoch die Schwann-Zellen der Büngnerschen Bänder von ihren alten Basalmembranen ablösen, wobei letztere oft in Falten aufgeworfen anzutreffen sind (Nathaniel und Pease, 1963a). Später wird dann eine neue Basalmembran und neues Kollagen um die Schwann-Zellen herumgelegt (O-Daly und Imaeda, 1967), woran die Schwann-Zellen selbst aktiv beteiligt

sind (Nathaniel und Pease, 1963c; Thomas, 1964b; Bunge et al., 1979). Die Neubildung der Basalmembran ist von der Neuron-Schwann-Zell-Interaktion abhängig (Bunge et al., 1980). Dies ist gut vereinbar mit der Beobachtung, daß wandernde Schwann-Zellen in sich entwickelnden Nerven zunächst keine Basalmembran aufweisen (Billings et al., 1974). Entfernt man von isoliert kultivierten Schwann-Zellen die Basalmembranen, so nimmt ihre Motilität zu, und sie wandern in Ketten angeordnet "often dramatically aligning end-to-end" (Salzer und Bunge, 1980). Ein vergleichbares, säulenförmiges Auswachsen von Schwann-Zellen findet sich in vivo bei der Wallerschen Degeneration, insbesondere im Bereich der durchschnittenen Nervenstümpfe, wo die Schwann-Zellbänder in die Nervenlücke hineinwachsen (Nageotte, 1932; Rexed, 1942; Thomas, 1966), in der eine alte Basalmembran fehlt.

Es wäre interessant zu prüfen, inwieweit diese Schwann-Zellbänder ebenso Gap Junctions ausbilden, wie wir sie im distalen Stumpf gesehen haben. Diese frühzeitige Gap junctionale Kopplung der Schwann-Zellen ist wahrscheinlich für die räumliche Orientierung der Schwann-Zellen in den Büngnerschen Bändern mitverantwortlich. Eine Kopplung der Zellen eines Zellbandes schafft wohl nicht nur einen gemeinsamen Pool an kleinen Metaboliten, sondern die Zellen der Zellbänder sind außerdem elektrisch gekoppelt. Inwieweit dies auf Oberflächeneigenschaften der Zellen für ihre Funktion als Leitstruktur von Bedeutung ist, bleibt dahingestellt. Aufgrund der oben dargestellten Funktion der Gap Junctions als Vermittler einer interzellulären Kommunikation in differenzierenden Geweben, besteht guter Grund anzunehmen, daß diese Gap Junctions eine wesentliche

Rolle spielen bei der Koordinierung der Schwann-Zellbandbildung. Letztere stellt zur Errichtung der "spezifischen" Leitstruktur einen wesentlichen Schritt bei der Regeneration der peripheren Nerven dar. Diese Rolle der Gap Junctions kommt insbesondere durch ihr nur vorübergehendes Auftreten zwischen den Schwann-Zellen in der Phase der Proliferation und Migration zum Ausdruck.

7. ZUSAMMENFASSUNG UND KONKLUSION

I.1. Die Gefrierätzungsuntersuchungen zur Myelogenese im Ischiasnerven des Hühnchens zeigten, daß mit den ersten Schwann-Zellwicklungen die Bildung einer myelinären Zonula occludens einsetzt. Zunächst treten focale tight Junction Kontakte in den Membranen der sich aneinanderlegenden Schwann-Zellamellen auf. Im weiteren Verlauf der Myelogenese bilden diese tight Junction Elemente eine weitestgehend kontinuierliche tight Junction Kontaktzone, die durch die Verlängerung dieser tight Junction Elemente sowie durch ihre End-zu-End oder End-zu-Seit Verschmelzung entsteht. Diese Kontaktzone durchzieht in longitudinalem Verlauf die Mesaxone und folgt paranodal dem spiralig aufgewickelten Rand der Schwann-Zelle, der im Schnittbild als paranodale Schleifen imponiert.

2. Während gegen Ende der Embryonalentwicklung diese Zonula occludens im äußeren Mesaxon aus bis zu zehn nebeneinander verlaufenden tight Junction Strängen bestehen kann, wandelt sich im Verlauf der weiteren Entwicklung das Bild sehr deutlich. Mit der weiteren Differenzierung nach dem Schlüpfen bilden sich typische fasergrößenspezifische Unterschiede aus. In den Nerven der 4 Wochen alten Hühnchen finden sich in den Markscheiden kleineren Typs (weniger als 25 Wicklungen) tight Junction Kontakte im Sinne einer Zonula occludens. In den Markscheiden größeren Typs (mehr als 40 Wicklungen) sind zu dieser Zeit nur noch kurze, focale tight Junction Kontakte anzutreffen. Diese Befunde unterstreichen eine besondere Funktion der myelinären tight Junction Kontakte während der Myelogenese, in der sie besonders intensiv auftreten.

Die Funktion von tight Junction Kontakten als Membranhafthstellen sowie ihr gemeinsames Auftreten mit Zonula adherens Kontakten läßt vermuten, daß die Doppelmembranspirale der Markscheide nicht durch ein freies Vorwachsen der Schwann-Zellzunge gebildet wird, wie es bisher diskutiert wurde. In der vorliegenden Studie wird vorgeschlagen, daß der Membrananbau innerhalb der Spirale stattfindet, wobei bestimmte Stellen favorisiert sind. Diese Theorie ist mit neueren autoradiographischen Studien gut vereinbar.

Die Funktion der tight Junction Kontakte als Permeabilitätsbarriere dürfte schon während der Entwicklung der Markscheide für eine "Abdichtung" der Mesaxone und paranodalen Schleifen sorgen und damit den intramyelinären Extrazellularräum vom extramyelinären Extrazellularräum trennen. Im erwachsenen Nerv dagegen trifft dies allenfalls nur noch für die kleinen Fasern zu, was möglicherweise ihre Funktion als Isolator verbessert.

Die Studien zur Remyelinisierung bestätigen, daß die tight Junction Bildung nicht von den besonderen Verhältnissen des embryonalen Milieus abhängt, sondern auch im regenerierenden Nerven der älteren Versuchstiere in vergleichbarer Weise abläuft.

II.1. Im experimentellen Teil der Arbeit wurde unter den Bedingungen der Wallerschen Degeneration nach Nervenquetschung im Alter von 4 Wochen das Schicksal der myelinären Zellkontakte verfolgt. In den ersten Tagen nach Quetschung fließen die tight Junction Elemente der Kontaktzonen zu rundlichen oder polygonalen Maculae zusammen und sind anschließend bis zum 4. Tag nach Quetschung in Vakuolen des Schwann-Zellzytoplasmas anzutreffen.

Dies unterstreicht die aktive Rolle der Schwann-Zellen an den Degenerationsvorgängen. Die hier demonstrierte endozytotische Aufnahme der tight Junctions unterstützt die von vielen Autoren vertretene Ansicht, daß bei der sekundären Degeneration die Schwann-Zellen wesentlich für den Abbau ihrer Markscheide verantwortlich sind, welche sie ebenfalls über eine endozytotische Aufnahme abbauen.

2. Diese aktive Rolle der Schwann-Zellen an den degenerativen und regenerativen Ereignissen wird auch dadurch unterstützt, daß bereits frühzeitig mit Zerfall der Markscheiden Gap Junction Kontakte in den Membranen der Schwann-Zellen auftreten. Im Stadium der von Büngnerschen Zellbänder erreicht die Gap Junction Verbindung zwischen den Schwann-Zellen ihren Höhepunkt. Mit der erneut einsetzenden Myelogenese finden sich diese nicht mehr, jedoch können in den tight Junction Kontaktzonen der Markscheide kleinere Gap Junctions noch angetroffen werden.

Da die Gap Junctions zwischen den Schwann-Zellen also nur vorübergehend in der Phase der Schwann-Zellmigration und Umoorientierung in die von Büngnerschen Zellbänder auftreten, muß hier eine spezielle Funktion bei diesen zellulären Ereignissen vorliegen.

In zahlreichen Studien zur Funktion von Gap Junction Kontakten wird diesen eine wesentliche Rolle als Vermittler einer interzellulären Kommunikation zugeordnet, da hier ein interzellulärer Übertritt von Ionen und kleinen Molekülen ermöglicht wird.

Es besteht daher guter Grund anzunehmen, daß sie eine wesentliche Rolle spielen bei der Koordinierung der Schwann-Zellproliferation, Migration und Umoorientierung in die von Büngnerschen Zellbänder.

Dies spricht für die aktive Beteiligung der Schwann-Zellen an der Schaffung der spezifischen Leitstruktur in Form der Büngnerschen Zellbänder.

Wenn auch die molekulare Natur der interzellulären Kommunikation letztlich noch unbekannt ist, so liefert die morphologische Demonstration der möglichen zellulären Kommunikationswege einen weiteren Schritt zum Verständnis der zellulären Ereignisse bei der Wallerschen Degeneration und nachfolgenden Regeneration.

8. LITERATUR

ABERCROMBIE, M., JOHNSON, M.L. (1946)

Quantitative histology of Wallerian degeneration.
I. Nuclear population in the rabbit sciatic nerve.
Journal of Anatomy 80, 37-50.

ALLT, G. (1972)

An ultrastructural analysis of remyelination following segmental demyelination.
Acta Neuropathologica (Berlin) 22, 333-344.

ALLT, G. (1976)

Pathology of the peripheral nerve.
In: The Peripheral Nerve (D. N. Landon, ed.) pp. 666-739.
Chapman and Hall, London.

AMBRONN, H. (1980)

Das optische Verhalten markhaltiger und markloser Nervenfasern.
Berichte über die Verhandlungen der Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften (Leipzig), mathematisch-physikalische Classe 42, 419-429.

AMSTERDAM, A., JOSEPHS, R., LIEBERMAN, M.E., LINDNER, H.R. (1976)

Organisation of intramembrane particles in freeze-cleaved gap junctions of rat Graafian follicles: Optical-diffraction analysis.
Journal of Cell Science 21, 93-105.

ANDRES, K.H. (1965)

Über die Feinstruktur besonderer Einrichtungen in markhaltigen Nervenfasern des Kleinhirns der Ratte.
Zeitschrift für Zellforschung 65, 701-712.

APPENZELLER, O., PALMER, G. (1972)

The cyclic AMP (adenosine-3'5'-phosphate) content of sciatic nerve: changes after nerve crush.
Brain Research 42, 521-524.

BALLIN, R.H.M., THOMAS, P.K. (1969)

Changes at the nodes of Ranvier during Wallerian degeneration: An electron microscope study.
Acta Neuropathologica (Berlin) 14, 237-249.

BARGMANN, W., LINDNER, E. (1964)

Über den Feinbau des Nebennierenmarkes des Igels.
Zeitschrift für Zellforschung 64, 868-912.

BENJAMINS, J.A., MORELL, P. (1978)

Proteins of myelin and their metabolism.
Neurochemical Research 3, 137-174.

- BENNEDETTI, E.L., EMMELOT, P. (1968)
Hexagonal array of subunits in tight junctions separated from isolated rat liver plasma membranes.
Journal of Cell Biology 38, 15-24.
- BENNETT, M.V.L. (1973)
Function of electrotonic junctions in embryonic and adult tissues.
Federation Proceedings 32, 65-75.
- BENNETT, M.V.L., GOODENOUGH, D.A. (1978)
Gap junctions, electrotonic coupling and intercellular communication.
Neurosciences Research Program Bulletin 16, 373-486.
- BENNETT, M.V.L., TRINKAUS, J.P. (1970)
Electrical coupling between embryonic cells by way of extracellular space and specialized junctions.
Journal of Cell Biology 44, 592-610.
- BERNER, A., TORVIK, A., STENWIG, A.E. (1973)
Origin of macrophages in traumatic lesions and Wallerian degeneration in peripheral nerves.
Acta Neuropathologica (Berlin) 25, 228-236.
- BERTAUD, W.S. (1978)
Membrane junctions in the myelin sheath of goldfish lateral nerve.
Journal of Cell Science 30, 77-85.
- BERTHOLD, C.-H. (1968)
Ultrastructure of postnatally developing feline peripheral nodes of Ranvier.
Acta societatis medicorum upsaliensis 73, 145-168.
- BETHE, A. (1903)
Zur Frage von der autogenen Nervenregeneration.
Neurologisches Centralblatt 22, 60-62.
- BILLINGS-GAGLIARDI, S., WEBSTER, H. deF., O'CONNELL, M.F. (1974)
In vivo and electron microscopic observations on Schwann cells in developing tadpole nerve fibers.
American Journal of Anatomy 141, 375-392.
- BLACKSHAW, S.E., WARNER, A.E. (1976)
Low resistance junctions between mesoderm cells during development of trunk muscles.
Journal of Physiology 255, 209-230.
- BLAUROCK, A.E. (1971)
Structure of the nerve myelin membrane: Proof of the low-resolution profile.
Journal of Molecular Biology 56, 35-52.

BLAUROCK, A.E. (1973)

X-ray diffraction pattern from a bilayer with protein outside.

Biophysical Journal 13, 281-289.

BLAUROCK, A.E. (1976)

Myelin x-ray patterns recorded.

Biophysical Journal 16, 491-501.

BLECHSCHMIDT, E., KONITZ, H., KONTOKOLLIAS, H. (1970)

Der Spiralisierungsprozeß bei der Markscheidenbildung.

Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten 213, 1-10.

BLÜMCKE, S., NIEDORF, H.R. (1966)

Electron microscope studies of Schwann cells during the Wallerian degeneration with special reference to the cytoplasmic filaments.

Acta Neuropathologica (Berlin) 6, 46-60.

BOEKE, J. (1930)

De- und Regeneration des peripheren Nervensystems.

Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde 115, 160-197.

BOEKE, J. (1950)

Nerve regeneration.

In: Genetic Neurology (P. Weiss, ed.), pp. 78-91.

The University of Chicago Press, Chicago, Illinois

BRADLEY, W.G., ASBURY, A.K. (1970)

Duration of synthesis phase in neurilemma cells in mouse sciatic nerve during degeneration.

Experimental Neurology 26, 275-282.

BRANTON, D. (1966)

Fracture faces of frozen membranes.

Proceedings of the National Academy of Sciences USA 55, 1048-1056.

BRANTON, D. (1967)

Fracture faces of frozen myelin.

Experimental Cell Research 45, 703-707.

BRANTON, D., BULLIVANT, S., GILULA, N.B., KARNOVSKY, M.J., MOOR, H., MÜHLETHALER, K., NORTHCOTE, D.H., PACKER, L., SATIR, B., SATIR, P., SPETH, V., STAEHELIN, L.A., STEERE, R.L., WEINSTEIN, R.S. (1975)

Freeze-etching nomenclature.

Science 190, 54-56.

BRAUN, P.E. (1977)

Molecular architecture of myelin.

In: Myelin (P. Morell, ed.), pp. 91-115. Plenum Press, New York.

- BRAUN, P.E., BROSTOFF, S.W. (1977)
Proteins of myelin.
In: Myelin (P. Morell, ed.), pp. 201-231. Plenum Press, New York.
- BRIGHTMAN, M.W., REESE, T.S. (1969)
Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain.
Journal of Cell Biology 40, 648-677.
- BÜNGNER, O. VON (1891)
Über die Degenerations und Regenerationsvorgänge am Nerven nach Verletzungen.
Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie, redigiert von E. Ziegler. 10, 321-393.
- BULLIVANT, S. (1976)
Evidence that the tight junction sealing element consists of two side-by-side fibrils.
Journal of Cell Biology 70, 35a.
- BUNGE, R.P. (1968)
Glial cells and the central myelin sheath.
Physiological Reviews 48, 197-251.
- BUNGE, M.B., BUNGE, R.P., RIS, H. (1961)
Ultrastructural study of remyelination in an experimental lesion in adult cat spinal cord.
Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 10, 67-94.
- BUNGE, M.B., WILLIAMS, A.K., WOOD, P.M. (1979)
Further evidence that neurons are required for the formation of basal lamina around Schwann cells.
Journal of Cell Biology 83, 130a.
- BUNGE, M.B., WILLIAMS, A.K., WOOD, P.M., UITTO, J., JEFFREY, J.J. (1980)
Comparison of nerve cell and nerve cell plus Schwann cell cultures, with particular emphasis on basal lamina and collagen formation.
Journal of Cell Biology 84, 184-202.
- CALEY, D.W., BUTLER, A.B. (1974)
Formation of central and peripheral myelin sheaths in the rat: An electron microscopic study.
American Journal of Anatomy 140, 339-348.
- CASPAR, D.L.D., KIRSCHNER, D.A. (1971)
Myelin membrane structure at 10 Å resolution.
Nature New Biology 231, 46-52.

CAUSEY, G. (1960)

The Cell of Schwann.

Livingstone, Edinburgh and London

CAUSEY, G., PALMER, E. (1953)

The centrifugal spread of structural change at the nodes in degenerating mammalian nerves.

Journal of Anatomy 87, 185-191.

CHALCROFT, J.P., BULLIVANT, S. (1970)

An interpretation of liver cell membrane and junction structure based on observation of freeze-fracture replicas of both sides of the fracture.

Journal of Cell Biology 47, 49-60.

CLAUDE, P., GOODENOUGH, D.A. (1973)

Fracture faces of zonulae occludentes from "tight" and "leaky" epithelia.

Journal of Cell Biology 58, 390-400.

CRAVIOTO, H. (1965)

The role of Schwann cells in the development of human peripheral nerves.

Journal of Ultrastructure Research 12, 634-651.

CRUIKSHANK, W. (1795)

Experiments on the nerves, particularly on their reproduction; and on the spinal marrow of living animals.

Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Part 1, for the year 1795. 177-189.

DECKER, R.S., FRIEND, D.S. (1974)

Assembly of gap junctions during amphibian neurulation.

Journal of Cell Biology 62, 32-47.

DEITERS, O. (1865)

Untersuchungen über Gehirn und Rückenmark des Menschen und der Säugetiere.

nach dem Tode des Verfassers herausgegeben von Max Schultze, Verlag Friedrich von Vieweg + Sohn, Braunschweig, 1865.

DE LA MOTTE, D.J., HALL, S.M., ALLT, G. (1975)

A study of the perineurium in peripheral nerve pathology.

Acta Neuropathologica (Berlin) 33, 257-270.

DERMIETZEL, R. (1974a)

Junctions in the central nervous system of the cat.

I. Membrane fusion in central myelin.

Cell and Tissue Research 148, 565-576.

DERMIETZEL, R. (1974b)

Junctions in the central nervous system of the cat.
II. A contribution to the tertiary structure of
the axonal-glial junctions in the paranodal region
of the node of Ranvier.

Cell and Tissue Research 148, 577-586.

DERMIETZEL, R., KROCZEK, H., SCHÜNKE, D. (1977)

Bildungsmechanismen der intramyelinären zonula occludens während der Myelogenese im zentralen Nervensystem.
72. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft in Aachen,
12. bis 16. April 1977.

DERMIETZEL, R., MELLER, K., TETZLAFF, W., WAELSCH, M.
(1977)

In vivo and in vitro formation of the junctional
complex in the choroid epithelium.

Cell and Tissue Research 181, 427-441.

DERMIETZEL, R., SCHÜNKE, D., LEIBSTEIN, A. (1978)

The oligodendrocytic junctional complex.

Cell and Tissue Research 193, 61-72.

DEWEY, M.M., BARR, L. (1964)

A study of the structure and distribution of the nexus.
Journal of Cell Biology 23, 553-585.

DIXON, J.S., CRONLY-DILLON, J.R. (1972)

The fine structure of the developing retina in *Xenopus laevis*.

Journal of Embryology and Experimental Morphology 28,
659-666.

DOLAPCHIEVA, S.D. (1974)

Desmosome-like structures during the development of
peripheral nerve fibers.

Acta Anatomica (Basel) 87, 368-374.

DOLAPCHIEVA, S.D., LIERSE, W.

On some aspects of Schwann-sheath development and the
possible role of their desmosome-like structures.

Anatomy and Embryology 147, 213-224.

DOMONKOS, J. (1972)

Lipid metabolism in Wallerian degeneration.

In: Handbook of Neurochemistry (A. Lajtha, ed.), Vol. 7.
pp. 93-106. Plenum Press, New York.

DUGUID, J.R., REVEL, J.P. (1976)

The protein components of the gap junction.

Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 40,
45-47.

- DUNN, J.S. (1970)
Developing myelin in human peripheral nerve.
Scottish Medical Journal 15, 108-117.
- DYCK, P.J., HOPKINS, A.P. (1972)
Electron microscopic observations on degeneration
and regeneration of unmyelinated fibers.
Brain 95, 223-234.
- EICHHORST, H. (1874)
Ueber Nervendegeneration und Nervenregeneration.
Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie
und für klinische Medizin 59, 1-25.
- ELFVIN, L.-G. (1961a)
The ultrastructure of the nodes of Ranvier in cat
sympathetic nerve fibers.
Journal of Ultrastructure Research 5, 374-387.
- ELFVIN, L.-G. (1961b)
Electron microscopic investigation of the plasma mem-
brane and myelin sheath of autonomic nerve fibers in
the cat.
Journal of Ultrastructure Research 5, 388-407.
- ELFVIN, L.-G. (1968)
The structure and composition of motor, sensory, and
autonomic nerves and nerve fibers.
In: The Structure and Function of Nervous Tissue (G.H.
Bourne, ed.) Vol. 1. pp. 325-377. Academic Press, New
York-London.
- ELFVIN, L.-G., FORSMAN, C. (1978)
The ultrastructure of junctions between satellite cells
in mammalian sympathetic ganglia as revealed by freeze-
etching.
Journal of Ultrastructure Research 63, 261-274.
- ELKES, J., FINEAN, J.B. (1953a)
X-ray diffraction studies on the effect of temperature
on the structure of myelin in the sciatic nerve of the
frog.
Experimental Cell Research 4, 69-81.
- ELKES, J., FINEAN, J.B. (1953b)
Effects of solvents on the structure of myelin in the
sciatic nerve of the frog.
Experimental Cell Research 4, 82-95.
- ELLISMAN, M.H. (1979)
Molecular specializations of the axon membrane at nodes
of Ranvier are not dependent upon myelination.
Journal of Neurocytology 8, 719-735.

- EVANS, W.H., GURD, J.W. (1972)
Preparation and properties of nexuses and lipid-enriched vesicles from mouse liver plasma membranes.
Biochemical Journal 128, 691-700.
- EWALD, A., KÜHNE, W. (1877)
Über einen neuen Bestandteil des Nervensystems.
Verhandlungen des naturhistorischen Vereins Heidelberg 1, 457.
- FARQUHAR, M.G., PALADE, G.E. (1963)
Junctional complexes in various epithelia.
Journal of Cell Biology 17, 375-412.
- FERNANDEZ-MORAN, H. (1950a)
Electron microscope observations on the structure of the myelinated nerve fiber sheath.
Experimental Cell Research 1, 143-149.
- FERNANDEZ-MORAN, H. (1950b)
Elektronenmikroskopische Untersuchung der Markscheide und des Achsenzylinders im internodalen Abschnitt der Nervenfasern.
Experientia 6, 339-342.
- FERNANDEZ-MORAN, H. (1952)
The submicroscopic organization of vertebrate nerve fibers. An electron microscope study of myelinated and unmyelinated nerve fibers.
Experimental Cell Research 3, 282-359.
- FERNANDEZ-MORAN, H., FINEAN, J.B. (1957)
Electron microscope and low-angle x-ray diffraction studies of the nerve myelin sheath.
Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 3, 725-748.
- FINEAN, J.B. (1953)
Phospholipid-cholesterol complex in the structure of myelin.
Experientia 9, 17-19.
- FINEAN, J.B. (1954)
The effects of osmium tetroxide fixation on the structure of myelin in sciatic nerve.
Experimental Cell Research 6, 283-292.
- FINEAN, J.B. (1961)
The nature and stability of nerve myelin.
In: *International Review of Cytology*. (G. H. Bourne, J. F. Danielli, eds.) Vol. 12. pp. 303-336. Academic Press, New York.

FINEAN, J.B., BURGE, R.E. (1963)
The determination of the Fourier transform of the myelin layer from a study of swelling phenomena.
Journal of Molecular Biology 7, 672-682.

FINEAN, J.B., MILLINGTON, P.F. (1957)
Effects of ionic strength of immersion medium on the structure of peripheral nerve myelin.
Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 3, 89-94.

FISHER, S.K., LINDBERG, K.A. (1975)
Intercellular junctions in the early human embryonic retina.
Journal of Ultrastructure Research 51, 69-78.

FISHER, E.R., TURANO, A. (1963)
Schwann cells in Wallerian degeneration.
Archives of Pathology 75, 517-527.

FONTANA, F. (1781)
Traité sur le venin de la vipère, Florence.
zitiert nach Gedoelst, L. (1886), Etude sur la constitution cellulaire de la fibre nerveuse. La Cellule 3, 115-218.

FORSSMAN, J. (1900)
Zur Kenntniss des Neurotropismus.
Beiträge zur pathologischen Anatomie 27, 407-430.

FRAHER, J.P. (1973)
A quantitative study of anterior root fibres during early myelination. II. Longitudinal variation in sheath thickness and axon circumference.
Journal of Anatomy 115, 421-444.

FRIEDE, R.L. (1972)
Control of myelin formation by axon caliber (with a model of the control mechanism).
Journal of Comparative Neurology 144, 233-252.

FRIEDE, R.L., MIYAGISHI, T. (1972)
Adjustment of the myelin sheath to changes in axon caliber.
Anatomical Record 172, 1-14.

FRIEDE, R.L., SAMORAJSKI, T. (1968)
Myelin formation in the sciatic nerve of the rat.
Journal of Neuropathology and Experimental Neurology 27, 546-569.

- FRIEND, D.S., GILULA, N.B. (1972)
Variations in tight and gap junctions in mammalian tissues.
Journal of Cell Biology 53, 758-776.
- FUJISAWA, H., MORIOKA, H., WATANABE, K., NAKAMURA, H. (1976)
A decay of gap junctions in association with cell differentiation of neural retina in chick embryonic development.
Journal of Cell Science 22, 585-596.
- FUJISAWA, H., MORIOKA, H., NAKAMURA, H., WATANABE, K. (1976)
Gap junctions in the differentiated neural retinae of newly hatched chickens.
Journal of Cell Science 22, 597-606.
- FURSHPAN, E.J., POTTER, D.D. (1968)
Low-resistance junctions between cells in embryos and tissue culture.
Current Topics in Developmental Biology (A. A. Moscona, A. Monroy, eds.), Vol. 3. pp. 95-127.
Academic Press, New York-London.
- GAMBLE, H.J. (1966)
Further electron microscope studies of human foetal peripheral nerves.
Journal of Anatomy 100, 487-502.
- GAMBLE, H.J., GOSSET, J.M. (1966)
Specialization of Schwann cell membranes.
Nature 212, 734-735.
- GASSER, H.S. (1952)
Diskussion zum Beitrag von Bernhard Frankenhaeuser (1952) The hypothesis of saltatory conduction.
In: Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 17, 27-36.
- GEDOELST, L. (1886)
Etude sur la constitution cellulaire de la fibre nerveuse.
La Cellule 3, 115-218.
- GEREN, B.B. (1954)
The formation from the Schwann cell surface of myelin in the peripheral nerves of chick embryos.
Experimental Cell Research 7, 558-562.

GEREN-UZMAN, B.B., NOGUEIRA-GRAF, G. (1957)
Electron microscope studies of the formation of nodes
of Ranvier in the mouse sciatic nerves.
Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 3,
589-597.

GLEES, P., MELLER, K. (1966)
Morphology of Neuroglia
In: The Structure and Function of Nervous Tissue
(G. H. Bourne, ed.), Vol. 1. pp. 301-323. Academic
Press, New York-London.

GILULA, N.B. (1977)
Gap junctions and cell communication.
In: International Cell Biology (B. R. Brinkeley,
K. R. Porter, eds.), pp. 138-148. Rockefeller
University Press

GILULA, N.B., FAWCETT, O.W., AOKI, A. (1976)
The Sertoli cell occluding junctions and gap junctions
in mature and developing mammalian testis.
Developmental Biology 50, 142-168.

GILULA, N.B., REEVES, O.R., STEINBACH, A. (1972)
Metabolic coupling, ionic coupling and cell contacts.
Nature 235, 262-265.

GÖTHLIN, G.F. (1913)
Die Doppelbrechenden Eigenschaften des Nervengewebes.
Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar,
Uppsala und Stockholm 51, 1-92.

GOODENOUGH, D.A. (1976)
The structure and permeability of isolated hepatocyte
gap junctions.
Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 40,
37-43.

GOODENOUGH, D.A., GILULA, N.B. (1974)
The splitting of hepatocyte gap junctions and zonulae
occludentes with hypertonic disaccharides.
Journal of Cell Biology 61, 575-590.

GOODENOUGH, D.A., REVEL, J.P. (1970)
A fine structural analysis of intercellular junctions
in the mouse liver.
Journal of Cell Biology 45, 272-290.

GOODENOUGH, D.A., STOECKENIUS, W. (1972)
The isolation of mouse hepatocyte gap junctions. Pre-
liminary chemical characterization and x-ray diffrac-
tion.
Journal of Cell Biology 54, 646-656.

GOULD, R.M. (1977)

Incorporation of glycoproteins into peripheral nerve myelin. *Journal of Cell Biology* 75, 326-338.

GRAFSTEIN, B., McQUARRIE, I.G. (1978)

Role of the nerve cell body in axonal regeneration. In: *Neuronal Plasticity* (C. W. Cotman, ed.), Raven Press, New York.

GREGSON, N.A. (1976)

The chemistry and structure of myelin. In: *The Peripheral Nerve*. (D. N. Landon, ed.) pp. 512-604. Chapman and Hall, London.

GUENTHER, SCHOEN (1840)

Versuche und Bemerkungen über Regeneration der Nerven und Abhängigkeit der peripherischen Nerven von den Centralorganen.

(Müller's Archiv) *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medizin* 1840, 270-286.

GUTH, L. (1956)

Regeneration in the mammalian peripheral nervous system. *Physiological Reviews* 36, 441-478.

HAIGHTON, J. (1975)

An experimental inquiry concerning the reproduction of nerves.

Philosophical Transactions of the Royal Society of London for the year 1795, 190-201.

HALL, S.M., WILLIAMS, P.L. (1970)

Studies on the 'incisures' of Schmidt and Lanterman. *Journal of Cell Science* 6, 767-791.

HALL, S.M., WILLIAMS, P.L. (1971)

The distribution of electron-dense tracers in peripheral nerve fibers.

Journal of Cell Science 8, 541-555.

HARKIN, J.C. (1964)

A series of desmosomal attachments in the Schwann sheath of myelinated mammalian nerves.

Zeitschrift für Zellforschung, 64, 189-195.

HAYES, B.P., ROBERTS, A. (1975)

The distribution of non-synaptic intercellular junctions during neurone differentiation in the developing spinal cord of the clawed toad.

Journal of Embryology and Experimental Morphology 33, 403-417.

- HERR, C.J. (1976)
Reflexive gap junctions.
Gap junctions between processes arising from the same
ovarian decidual cell.
Journal of Cell Biology 69, 495-501.
- HIRANO, A., DEMBITZER, H. M. (1967)
A structural analysis of the myelin sheath in the
central nervous system.
Journal of Cell Biology 34, 555-567.
- HOLTZMAN, E., NOVIKOFF, A.B. (1965)
Lysosomes in the rat sciatic nerve following crush.
Journal of Cell Biology 27, 651-669.
- HONJIN, R., KOSAKA, T., TAKYANO, I., HIRAMATSU, K.
(1963)
Electron microscopy of nerve fibers VII.
On the electron dense radial component in the lamina-
ted myelin sheath.
Okajimas Folia Anatomica Japonica 39, 39-53.
- HUXLEY, A.F., STÄMPFLI, R. (1949)
Evidence for saltatory conduction in peripheral myeli-
nated nerve fibres.
Journal of Physiology 108, 315-339.
- JOHNSON, R., HAMMER, M., SHERIDAN, J., REVEL, J.-P.
(1974)
Gap junction formation between reaggregated Novikoff
hepatoma cells.
Proceedings of the National Academy of Sciences USA
71, 4536-4540.
- JOHNSON, R.G., SHERIDAN, J.D. (1971)
Junctions between cancer cells in culture:
Ultrastructure and permeability.
Science 174, 717-719.
- JOSEPH, B.S. (1973)
Somatofugal events in Wallerian degeneration: a con-
ceptual overview.
Brain Research 59, 1-18.
- JOSEPH, J. (1947)
Absense of cell multiplication during degeneration of
non-myelinated nerves.
Journal of Anatomy 81, 135-139.
- JOSEPH, J. (1948)
Changes in nuclear population following twenty-one
days' degeneration in a nerve consisting of small mye-
linated fibers.
Journal of Anatomy 82, 146-152.

- JOY, R.T., FINEAN, J.B. (1963)
A comparison of the effects of freezing and of treatment with hypertonic solutions on the structure of nerve myelin.
Journal of Ultrastructure Research 8, 264-282.
- KARRER, H.E., COX, J. (1960)
The striated musculature of blood vessels.
II. Cell interconnections and cell surface.
Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 8, 135-150.
- KIRSCHNER, D.A., CASPAR, D.L.D. (1975)
Myelin structure transformed by dimethylsulfoxide.
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 72, 3513-3517.
- KIRSCHNER, D.A., CASPAR, D.L.D. (1977)
Diffraction studies of molecular organisation in myelin.
In: Myelin. (P. Morell, ed.) pp. 51-89. Plenum Press, New York
- KLEBS (1865)
Die Nerven der organischen Muskelfasern.
Archiv für pathologische Anatomie (Virchow's Archiv) 32, 163-198.
- KLEMM, H. (1970)
Das Perineurium als Diffusionsbarriere gegenüber Peroxidase bei epi- und endoneuraler Applikation.
Zeitschrift für Zellforschung 108, 431-445.
- KÖLLIKER, A. (1850)
Mikroskopische Anatomie oder Gewebelehre des Menschen.
Verlag Wilhelm Engelmann, Leipzig, 1850.
- KREUTZBERG, G.W. (1972)
Neural degeneration and regeneration.
In: Pathology of the Nervous System. (J. Minckler, ed.) Vol. 3. pp. 2678-2687. McGraw-Hill, New York.
- KREUTZIGER, G.O. (1968)
Freeze-etching of intercellular junctions of mouse liver.
In: Proceedings of the 26th Annual Meeting of the Electronmicroscopy Society of America, New Orleans, 1968. (C.J. Arceneaux, ed.) pp. 234-235. Claitor's Publishing Division, Baton Rouge.

LANDON, D.N., HALL, S. (1976)

The myelinated nerve fibre.

In: The Peripheral Nerve. (D. N. Landon, ed.) pp. Chapman and Hall, London.

LANTERMAN, A.J. (1877)

Über den feineren Bau der markhaltigen Nervenfasern.

Archiv für mikroskopische Anatomie 13, 1-8.

LARSEN, W.J. (1977)

Structural diversity of gap junctions. A review.

Tissue and Cell 9, 373-394.

LARSEN, W.J., TUNG, H., MURRAY, S.A., SWENSON, C.A. (1979)

Evidence for the participation of actin microfilaments and bristle coats in the internalisation of gap junction membrane.

Journal of Cell Biology 83, 576-587.

LEEUEWENHOEK, A. van (1687)

zitiert nach Gedoelst (1886)

Etude sur la constitution cellulaire de la fibre nerveuse.

La Cellule 3, 115-218.

LEHMANN, H.J. (1959)

Die Nervenfasern.

In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie. 4. Band.

Nervensystem. 4. Teil (begründet von W. v. Möllendorf, fortgeführt von W. Bargmann), pp. 513-701. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg.

LEVINE, Y.K., WILKINS, M.H.F. (1971)

Structure of oriented lipid bilayers.

Nature New Biology 230, 69-72.

LIU, H.M. (1974)

Schwann cell properties.

II. The identity of phagocytes in the degenerating nerve.

American Journal of Pathology 75, 395-416.

LIVINGSTON, R.B., PFENNINGER, K., MOOR, H., AKERT, K. (1973)

Specialized paranodal glial-axonal junctions in the peripheral and central nervous system: A freeze-etching study.

Brain Research 58, 1-24.

- LOEWENSTEIN, W.R. (1966)
Permeability of membrane junctions.
Annals of the New York Academy of Sciences 137,
441-472.
- LOEWENSTEIN, W.R. (1973)
Membrane junctions in growth and differentiation.
Federation Proceedings 52, 60-64.
- LOEWENSTEIN, W.R. (1977)
Permeability of the junctional membrane channel.
In: International Cell Biology. (B. R. Brinkley, K.R.
Porter, eds.) pp. 70-82. The Rockefeller University
Press
- LOEWENSTEIN, W.R., PENN, R.D. (1967)
Intercellular communication and tissue growth.
II. Tissue regeneration.
Journal of Cell Biology 33, 235-242.
- LOPRESTI, V., MACAGNO, E.R., LEVINTHAL, C. (1974)
Structure and development of neuronal connections in
isogenic organisms: Transient gap junctions between
growing optic axons and lamina neuroblasts.
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA
71, 1098-1102.
- LUCIANO, L., THIELE, J., REALE, E. (1979)
Development of follicles and of occluding junctions
between the follicular cells of the thyroid gland.
Journal of Ultrastructure Research 66, 164-181.
- LUFT, J.H. (1971)
Ruthenium red and violet. II. Fine structural localisa-
tion in animal tissues.
Anatomical Record 171, 369-416.
- LUZZATI, V. (1974)
X-ray diffraction approach to the structure of biological
membranes.
In: Perspectives in Membrane Biology. (S. Estrada-O.,
C. Gitler, eds.) pp. 25-43. Academic Press, New York
- MAGNUSON, T., DEMSEY, A., STACKPOLE, C.W. (1977)
Characterization of intercellular junctions in the
preimplantation mouse embryo by freeze-fracture and
thin-section electron microscopy.
Developmental Biology 61, 252-261.
- MARTINEZ-PALOMO, A., ERLIJ, D. (1975)
Structure of tight junctions in epithelia with different
permeability.
Proceedings of the National Academy of Sciences USA.,
72, 4487-4491.

MATURANA, H.R. (1960)

The fine anatomy of the optic nerve of anurans - an electron microscope study.

Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 7, 107-120.

McINTOSH, T.H., ROBERTSON, J.D. (1976)

Observations on the effect of hypotonic solutions on the myelin sheath in the central nervous system.

Journal of Molecular Biology 100, 213-217.

Mc NUTT, N.S. (1977)

Freeze-fracture techniques and applications to the structural analysis of the mammalian plasma membrane.

In: Cell Surface Reviews. (G. Poste, G.L. Nicolson, eds.) Vol. 3. pp. 75-126. Elsevier North-Holland, Amsterdam, New York, Oxford.

Mc NUTT, N.S., WEINSTEIN, R.S. (1970)

The ultrastructure of the nexus.

A correlated thin-section and freeze-cleave study.

Journal of Cell Biology 47, 666-688.

Mc NUTT, N.S., WEINSTEIN, R.S. (1973)

Membrane ultrastructure at mammalian intercellular junctions.

In: Progress in Biophysics and Molecular Biology.

(J. A. V. Butler, D. Noble, eds.) Vol. 26. pp. 45-101. Pergamon Press, Oxford.

MERK, F.B., ALBRIGHT, J.T., BOTTICELLI, C.R. (1973)

The fine structure of granulosa cell nexuses in rat ovarian follicles.

Anatomical Record 175, 107-126.

MEYER, R., POSALAKY, Z., Mc GINLEY, D. (1977)

Intercellular junction development in maturing rat seminiferous tubules.

Journal of Ultrastructure Research 61, 271-283.

MOKRASCH, L.C., BEAR, R.S., SCHMITT, F.O. (1972)

Myelin.

Neurosciences Research Program Bulletin. (F. O. Schmitt, G. Adelman, T. Melnechuk, F. Worden, eds.) Vol. 9.

pp. 439-598.

MØLLGÅRD, K., MALINOWSKA, D.H., SAUNDERS, N.R. (1976)

Lack of correlation between tight junction morphology and permeability properties in developing choroid plexus.

Nature 264, 293-294.

MONTESANO, R., FRIEND, D.S., PERRELETT, A., ORCI, L.
(1975)

In vivo assembly of tight junctions in fetal rat liver.
Journal of Cell Biology 67, 310-319.

MOOR, H. (1964)

Die Gefrier-Fixation lebender Zellen und ihre Anwendung
in der Elektronenmikroskopie.
Zeitschrift für Zellforschung 62, 546-580.

MOOR, H. (1969)

Freeze-etching.

In: International Review of Cytology. (G. H. Bourne,
J. F. Danielli, eds.) Vol. 25. pp. 391-412.
Academic Press, New York.

MOOR, H., MÜHLETHALER, K. (1963)

Fine structure in frozen-etched yeast cells.
Journal of Cell Biology 17, 609-628.

MORRIS, J.H., HUDSON, A.R., WEDDELL, G. (1972)

A study of degeneration and regeneration in the devided
rat sciatic nerve based on electron microscopy.
I. The traumatic degeneration of myelin in the proximal
stump of the devided nerve.
Zeitschrift für Zellforschung 124, 76-102.

MUGNAINI, E. (1978)

Fine structure of myelin sheaths.

In: Proceedings of the European Society of Neuroche-
mistry, Vol. 1. (V. Neuhoff, ed.) pp. 3-31. Verlag
Chemie, Weinheim-New York

MUGNAINI, E., OSEN, K.K., SCHNAPP, B., FRIEDRICH, JR.,
V.L. (1977)

Distribution of Schwann cell cytoplasm and plasmalemmal
vesicles (caveolae) in peripheral myelin sheaths.
An electron microscopic study with thin sections and
freeze-fracturing.
Journal of Neurocytology 6, 647-668.

MUGNAINI, E., SCHNAPP, B. (1974)

Possible role of zonula occludens of the myelin sheath
in demyelinating conditions.
Nature 251, 725-727.

MURRAY, M.R. (1964)

Myelin formation and neuron histogenesis in tissue
culture.

In: Comparative Neurochemistry. (D. Richter, ed.)
pp. 49-58. Pergamon Press, Oxford-London-New York-Paris.

NAGEOTTE, J. (1932)

Sheaths of the peripheral nerves.

Nerve degeneration and regeneration.

In: Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System. (W. Penfield, ed.) Vol. 1. pp. 189-239.

Hoeber, New York.

NAPOLITANO, L.M., SCALLEN, T.J. (1969)

Observations on the fine structure of peripheral nerve myelin.

Anatomical Record 163, 1-6.

NASSE (1839)

Ueber die Veränderungen der Nervenfasern nach ihrer Durchschneidung.

Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medizin (Müller's Archiv) 1839, 405-419.

NATHANIEL, E.J.H., PEASE, D.C. (1963a)

Degenerative changes in rat dorsal roots during Wallerian degeneration.

Journal of Ultrastructure Research 9, 511-532.

NATHANIEL, E.J.H., PEASE, D.C. (1963b)

Regenerative changes in rat dorsal roots following Wallerian degeneration.

Journal of Ultrastructure Research 9, 533-549.

NATHANIEL, E.J.H., PEASE, D.C. (1963c)

Collagen and basement membrane formation by Schwann cells during nerve regeneration.

Journal of Ultrastructure Research 9, 550-560.

NEUMANN, E. (1880)

Ueber Degeneration und Regeneration zerquetschter Nerven.

Archiv für mikroskopische Anatomie 18, 302-344.

NORTON, W.T. (1977)

Isolation and characterization of myelin.

In: Myelin. (P. Morell, ed.) pp. 161-199. Plenum Press, New York.

O'DALY, J.A. IMAEDA, T. (1967)

Electron microscopic study of Wallerian degeneration in cutaneous nerves caused by mechanical injury.

Laboratory Investigation 17, 744-766.

OHMI, S. (1961)

Electron microscopic study on Wallerian degeneration of the peripheral nerve.

Zeitschrift für Zellforschung 54, 39-67.

OLSSON, Y., SJÖSTRAND, J. (1969)
Origin of macrophages in Wallerian degeneration of
peripheral nerves demonstrated autoradiographically.
Experimental Neurology 23, 102-112.

OVERTON, J. (1975)
Experiments with junctions of the adherens type.
Current Topics in Developmental Biology. (A. A.
Moscona, A. Monroy, eds.) Vol. 10. pp. 1-32.
Academic Press. New York-San Francisco-London.

PANNESE, E., LUCIANO, L., IURATO, S., REALE, E. (1977)
Intercellular junctions and other membrane speciali-
zations in developing spinal ganglia: A freeze-fracture
study.
Journal of Ultrastructure Research 60, 169-180.

PAPPAS, G.D., ASADA, Y., BENNETT, M.V.L. (1971)
Morphological correlates of increased coupling
resistance at an electrotonic synapse.
Journal of Cell Biology 49, 173-188.

PAYTON, B.W., BENNETT, M.V.L., PAPPAS, G.D. (1969)
Permeability and structure of junctional membranes at
an electrotonic synapse.
Science 166, 1641-1643.

PERACCHIA, C. (1977)
Gap junctions.
Structural changes after uncoupling procedures.
Journal of Cell Biology 72, 628-641.

PERRONCITO, A. (1907)
Die Regeneration der Nerven.
Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allge-
meinen Pathologie 42, 354-446

PETERS, A. (1960a)
The formation and structure of myelin sheaths in the
central nervous system.
Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 8,
431-446.

PETERS, A. (1960b)
The structure of myelin sheaths in the central nervous
system of *Xenopus laevis* (Daudin).
Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 7,
121-126.

PETERS, A. (1961)
A radial component of central myelin sheaths.
Journal of Biophysical and Biochemical Cytology 11,
733-735.

PETERS, A., VAUGHN, J.E. (1970)
Morphology and development of the myelin sheath.
In: Myelination. (A. N. Davison, A. Peters, eds.)
pp. 3-79. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.

PETERSON, E.R., MURRAY, M.R. (1965)
Patterns of peripheral demyelination in vitro.
Annals of the New York Academy of Sciences 122,
39-50.

PETERSON, R.G., PEASE, D.C. (1972)
Myelin embedded in polymerized glutaraldehyde-urea.
Journal of Ultrastructure Research 41, 115-132.

PITTS, J.D. (1977)
Direct communication between animal cells.
In: International Cell Biology. (K. R. Brinkley,
B. R. Porter, eds.) pp. 43-49. Rockefeller University
Press.

PETERS, A., PALAY, S.L., WEBSTER, H. deF. (1976)
The cellular sheaths of neurons.
In: The Fine Structure of the Nervous System. Chap. VI.,
pp. 181-230. Saunders, Philadelphia.

PORCELLATI, G. (1972)
Amino acid and protein metabolism in Wallerian
degeneration.
In: Handbook of Neurochemistry. (A. Lajtha, ed.)
Vol. 7. pp. 191-219. Plenum Press, New York-London.

POTTER, D.D., FURSHPAN, E.J., LENNOX, E.S. (1966)
Connections between cells of the developing squid
as revealed by electrophysiological methods.
Proceedings of the National Academy of Sciences USA
55, 328-336.

RAFF, M.C., HORNBY-SMITH, A., BROCKES, J.P. (1978)
Cyclic AMP as a mitogenic signal for cultured rat
Schwann cells.
Nature 273, 672-673.

RAINE, C.S. (1977)
Morphological aspects of myelin and myelination.
In: Myelin. (P. Morell, ed.) pp. 1-49. Plenum-Press,
New York.

- RAMON Y CAJAL, S. (1908)
Studien über Nervenregeneration.
übersetzt von J. Bresler.
Ambrosius Barth, Leipzig.
- RAMON Y CAJAL, S. (1928)
Degeneration and regeneration of the nervous system.
Vol. 1 (translated and edited by R. M. May)
hier im Nachdruck: Hafner, New York, 1959.
- RANCK, J.L., MATEU, L., SADLER, D.M., TARDIEU, A.,
GULIK-KRZYWICKI, T., LUZZATI, V. (1974)
Order-disorder conformational transitions of the
hydrocarbon chains of lipids.
Journal of Molecular Biology 85, 249-277.
- RANVIER, L. (1871)
Contributions à l'histologie et à la physiologie des
nerfs périphériques.
Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie
des sciences, 73 1168-1171.
- RANVIER, L. (1872a)
Recherches sur l'histologie et la physiologie des nerfs.
Archives de Physiologie normale et pathologique (Paris)
pp. 129-149.
- RANVIER, L. (1872b)
De la dégénérescence des nerfs après leur section.
Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie
des sciences 75, 1831-1835.
- RANVIER, L. (1873)
De la régénération des nerfs sectionnés.
Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'académie
des sciences 76, 491-495.
- RANVIER, L. (1878)
Leçons sur l'histologie du système nerveux.
F. Savy, Paris.
- REALE, E., LUCIANO, L., SPITZNAS, M. (1975)
Zonulae occludentes of the myelin lamellae in the
nerve fibre layer of the retina and in the optic nerve
of the rabbit: a demonstration by the freeze-fracture
method.
Journal of Neurocytology 4, 131-140.
- REESE, T.S., KARNOVSKY, M.J. (1967)
Fine structural localization of a blood-brain barrier
to exogenous peroxidase.
Journal of Cell Biology 34, 207-217.

REIER, P.J., TABIRA, T., WEBSTER, H.deF. (1978)
Hexachlorophene-induced myelin lesions in the amphibian central nervous system.
Journal of the Neurological Sciences 35, 257-274.

REMAK, R. (1836)
Vorläufige Mittheilung microscopischer Beobachtungen über den inneren Bau der Cerebrospinalnerven und über die Entwicklung ihrer Formelemente.
Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medizin (Müller's Archiv) 1836, 145-161.

REMAK, R. (1837)
Weitere mikroskopische Beobachtungen über die Primitivfasern des Nervensystems der Wirbeltiere.
Froriep's Notizen aus dem Gebiete der Natur und Heilkunde. pp. 36-41. Jena 1837.

REMAK, R. (1853)
Amtlicher Bericht über die 29. Versammlung der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Aerzte zu Wiesbaden im September 1852. pp. 181-182. Wiesbaden 1853.

REVEL, J.-P., HAMILTON, D.W. (1969)
The double nature of the intermediate dense line in peripheral nerve myelin.
Anatomical Record 163, 7-16.

REVEL, J.-P., KARNOVSKY, M.J. (1967)
Hexagonal array of the subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver.
Journal of Cell Biology 33, c7-c12.

REVEL, J.-P., OLSON, W., KARNOVSKY, M.J. (1967)
A twenty-ångstrom gap junction with a hexagonal array of subunits in smooth muscle.
Journal of Cell Biology 35, 112a.

REVEL, J.-P., YEE, A.G., HUDSPETH, A.J. (1971)
Gap junctions between electrotonically coupled cells in tissue culture and in brown fat.
Proceedings of the National Academy of Sciences USA 68, 2924-2927.

REVEL, J.-P., YIP, P., CHANG, L.L. (1973)
Cell junctions in the early chick embryo - A freeze etch study.
Developmental Biology 35, 302-317.

REXED, B. (1942)
Über die Aktivität der Schwannschen Zellen bei der Nervenregeneration. I. Die Überbrückung neuritischer Nervenlücken.
Zeitschrift für mikroskopisch anatomische Forschung 51, 177-205.

- RIESKE, E., SCHUBERT, P., KREUTZBERG, G.W. (1975)
Transfer of radioactive material between electrically coupled neurons of the leech central nervous system. *Brain Research* 84, 365-382.
- ROBERTSON, J.D. (1955)
The ultrastructure of adult vertebrate peripheral myelinated nerve fibers in relation to myelinogenesis. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 1, 271-278.
- ROBERTSON, J.D. (1957)
New observations on the ultrastructure of the membranes of frog peripheral nerve fibers. *Journal of Biophysical and biochemical Cytology* 3, 1043-1048.
- ROBERTSON, J.D. (1958a)
The ultrastructure of Schmidt-Lanterman clefts and related shearing defects of the myelin sheath. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 4, 39-46.
- ROBERTSON, J.D. (1958b)
Structural alterations in nerve fibers produced by hypotonic and hypertonic solutions. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 4, 349-364.
- ROBERTSON, J.D. (1959)
Preliminary observations on the ultrastructure of nodes of Ranvier. *Zeitschrift für Zellforschung* 50, 553-560.
- ROBERTSON, J.D. (1960)
The molecular structure and contact relationships of cell membranes. *Progress in Biophysics (heute: Progress in Biophysics and Molecular Biology)* 10, 343-418.
- ROBERTSON, J.D. (1963)
The occurrence of a subunit pattern in the unit membranes of club endings in the Mauthner cell synapses in goldfish brains. *Journal of Cell Biology* 19, 201-221.
- ROGART, R.B., RITCHIE, J.M. (1977)
Physiological basis of conduction in myelinated nerve fibers. In: *Myelin*. (P. Morell, ed.) pp. 117-159. Plenum Press, New York.
- ROMINE, J.S., BRAY, G.M., AGUAYO, A.J. (1976)
Schwann cell multiplication after crush injury of unmyelinated fibers. *Archives of Neurology* 33, 49-54.

- ROSENBLUTH, J. (1965)
Ultrastructure of somatic muscle cells in *Ascaris Lumbricoides*. II. Intercellular junctions, neuromuscular junctions and glycogen stores.
Journal of Cell Biology 26, 579-591.
- ROSENBLUTH, J. (1976)
Intramembranous particle distribution at the node of Ranvier and adjacent axolemma in myelinated axons of the frog brain.
Journal of Neurocytology 5, 731-745.
- ROSENBLUTH, J. (1978)
Glial membrane specializations in extraparanodal regions.
Journal of Neurocytology 7, 709-719.
- ROSENBLUTH, J. (1979a)
Aberrant axon-Schwann cell junctions in dystrophic mouse nerves.
Journal of Neurocytology 8, 655-672.
- ROSENBLUTH, J. (1979b)
Axon-Schwann cell junctional membrane structure in lipid-extracted tissues.
Journal of Cell Biology 83, 143a
- ROSENSTEIN, J.M., BRIGHTMAN, M.W. (1979)
Regeneration and myelination in autonomic ganglia transplanted to intact brain surfaces.
Journal of Neurocytology 8, 359-379.
- RUMSBY, M.G., CRANG, A.J. (1977)
The myelin sheath - a structural examination.
In: *Cell Surface Reviews*, (G. Poste, G. L. Nicolson, eds.) Vol. 4, The Synthesis, Assembly and Turnover of Cell Surface Components. pp. 247-362. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam-New York-Oxford.
- SALZER, J.L., BUNGE, R.P. (1980)
Studies of Schwann cell proliferation.
I. An analysis in tissue culture of proliferation during development, Wallerian degeneration and direct injury.
Journal of Cell Biology 84, 739-752.
- SALZER, J.L., WILLIAMS, A.K., GLASER, L. BUNGE, R.P. (1980)
Studies of Schwann cell proliferation.
II. Characterization of the stimulation and specificity of the response to a neurite membrane fraction.
Journal of Cell Biology 84, 753-766.

SALZER, J.L., BUNGE, R.P., GLASER, L. (1980)
Studies of Schwann cell proliferation.
III. Evidence for the surface localization of the
neurite mitogen.
Journal of Cell Biology 84, 767-778.

SANDRI, C., van BUREN, J.M., AKERT, K. (1977)
Neural sheaths.
In: Progress in Brain Research, Vol. 46, Membrane
Morphology of the Vertebrate Nervous System (C. Sandri,
J.M. van Buren, K. Akert, eds.) pp. 211-287. Elsevier,
Amsterdam-Oxford-New York.

SATINSKY, D., PEPE, F.A., LIU, C.N. (1964)
The neurilemma cell in peripheral nerve degeneration
and regeneration.
Experimental Neurology 9, 441-451.

SCHMIDT, H.D. (1874)
On the construction of the dark or double-bordered
nerve fibre.
Monthly Microscopical Journal (London) 11, 200-221.

SCHMIDT, W.J. (1937)
Über die Formdoppelbrechung der osmierten Markscheide
des Nerven.
Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie 54, 159-167.

SCHMIDT, W.J. (1924)
Zur Doppelbrechung des Nervenmarks.
Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie 41, 29-38.

SCHMIDT, W.J. (1936)
Doppelbrechung und Feinbau der Markscheide der Nerven-
fasern.
Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische
Anatomie 23, 657-676.

SCHMITT, F.O. (1950)
The colloidal organization of the nerve fiber.
In: Genetic Neurology (P. Weiss, ed.) pp. 40-52.
The University of Chicago Press, Chicago, Illinois.

SCHMITT, F.O., BEAR, R.S. (1937)
The optical properties of vertebrate nerve axons as
related to fiber size.
Journal of Cellular and Comparative Physiology 9,
261-273.

SCHMITT, F.O., BEAR, R.S., PALMER, K.J. (1941)
X-ray diffraction studies on the structure of the nerve
myelin sheath.
Journal of Cellular and Comparative Physiology 18, 31-42.

- SCHNAPP, B., MUGNAINI, E. (1975)
The myelin sheath: Electron microscopic studies with thin sections and freeze-fracture.
In: Golgi Centennial Symposium, Proceedings. (M. Santini, ed.) pp. 209-233 Raven Press New York.
- SCHNAPP, B., MUGNAINI, E. (1978)
Membrane architecture of myelinated fibers as seen by freeze-fracture.
In: Physiology and Pathology of Axons. (S. G. Waxman, ed.) pp. 83-123. Raven Press, New York.
- SCHNAPP, B., PERACCHIA, C., MUGNAINI, E. (1976)
The paranodal axo-glial junction in the central nervous system studied with thin sections and freeze-fracture. *Neuroscience* 1, 181-190.
- SCHOENBORN, B.P. (1976)
Neutron scattering for the analysis of membranes. *Biochimica et Biophysica Acta* 457, 41-55.
- SCHWANN, Th. (1839)
Mikroskopische Untersuchungen über die Übereinstimmung in der Struktur und dem Wachstume der Tiere und Pflanzen. (Hier im Nachdruck: F. Hünslers, Hrsg., Verlag von W. Engelmann, 1910, Leipzig).
im Original: G. E. Reimer, Berlin.
- SHERIDAN, J.D. (1968)
Electrophysiological evidence for low-resistance inter-cellular junctions in the early chick embryo. *Journal of Cell Biology* 37, 650-659.
- SHINOWARA, N.L., BEUTEL, W.B., REVEL, J.-P. (1980)
Comparative analysis of junctions in the myelin sheath of central and peripheral axons of fish, amphibians and mammals: a freeze-fracture study using complementary replicas. *Journal of Neurocytology* 9, 15-38.
- SINGER, S.J., NICOLSON, G.L. (1972)
The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175, 720-731.
- SJÖSTRAND, F.S. (1950)
Electron-microscopic demonstration of a membrane structure isolated from nerve tissue. *Nature* 165, 482-483.

SJÖSTRAND, F.S. (1953)

The lammellated structure of the nerve myelin sheath as revealed by high resolution electron microscopy. *Experientia* 9, 68-69.

SJÖSTRAND, F.S. (1963)

The structure and formation of the myelin sheath. In: *Mechanisms of Demyelination*. (A. S. Rose, C. M. Pearson, eds.) pp. 1-43. Mc Graw-Hill, New York-Toronto-London.

SJÖSTRAND, F.S. (1979)

The interpretation of pictures of freeze-fractured biological material. *Journal of Ultrastructure Research* 69, 378-420.

SLACK, C., PALMER, J.F. (1969)

The permeability of intercellular junctions in the early embryo of *Xenopus Laevis*, studied with a fluorescent tracer. *Experimental Cell Research* 55, 416-419.

SPEIDEL, C.C. (1964)

In vivo studies of myelinated nerve fibers. *International Review of Cytology* (G. H. Bourne, J. F. Danielli, eds.) Vol. 16. pp. 173-231. Academic Press, New York-London.

STAEHELIN, L.A. (1973)

Further observations on the fine structure of freeze-cleaved tight junctions. *Journal of Cell Science* 13, 763-786.

STAEHELIN, L.A. (1974)

Structure and function of intercellular junctions. In: *International Review of Cytology* (G. H. Bourne, J. F. Danielli, eds.) Vol. 39. pp. 191-283. Academic Press, New York-London.

STÖHR, Ph. jr. (1928)

Das peripherische Nervensystem. In: *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. (W. v. Möllendorf, Hrgb.) vierter Band: Nervensystem, erster Teil: Nervengewebe - Das peripherische Nervensystem - Das Zentralnervensystem. J. Springer, Berlin.

STROEBE, H. (1893)

Experimentelle Untersuchungen über Degeneration und Regeneration peripherer Nerven nach Verletzungen. *Beiträge zur pathologischen Anatomie* 13, 160-278.

TABIRA, T., CULLEN, M.J., REIER, P.J., WEBSTER, H. deF. (1978)

An experimental analysis of interlamellar tight junctions in amphibian and mammalian C.N.S. myelin. *Journal of Neurocytology* 7, 489-503.

TANI, E., IKEDA, K., NISHIURA, M. (1973)

Freeze-etching images of central myelinated nerve fibers.

Journal of Neurocytology 2, 305-314.

TASAKI, I. (1952)

Conduction of impulses in the myelinated nerve fiber. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Vol. 17. pp.37-41.

TASAKI, I. (1959)

Conduction of the nerve impulse.

In: Handbook of Physiology (J. Field, ed. in chief) Section 1: Neurophysiology. Vol. 1. pp. 75-121.

TERRY, R.D., HARKIN, J.C. (1957)

Regenerating peripheral nerve sheaths following Wallerian degeneration.

Experimental Cell Research 13, 193-197.

TETZLAFF, W. (1978)

The development of a zonula occludens in peripheral myelin of the chick embryo.

Cell and Tissue Research 189, 187-201.

THOMAS, G.A. (1948)

Quantitative histology of Wallerian degeneration. II. Nuclear population in two nerves of different fibre spectrum.

Journal of Anatomy 82, 135-145.

THOMAS, P.K. (1964a)

Changes in the endoneurial sheaths of peripheral myelinated nerve fibers during Wallerian degeneration.

Journal of Anatomy (London) 98, 175-182.

THOMAS, P.K. (1964b)

The deposition of collagen in relation to Schwann cell basement membrane during peripheral nerve regeneration.

Journal of Cell Biology 23, 375-382.

THOMAS, P.K. (1966)

The cellular response to nerve injury.

1. The cellular outgrowth from the distal stump of transected nerve.

Journal of Anatomy 100, 287-303.

THOMAS, P.K. (1970)

The cellular response to nerve injury.
Journal of Anatomy 106, 463-470.

THOMAS, P.K. (1974)

Nerve injury.

In: Essays on the Structure and Function of the Nervous System. (R. Bellairs, E. G. Gray, eds.)
pp. 44-70. Clarendon Press, Oxford.

TOWFIGHI, J., GONATAS, N. (1977)

The distribution of peroxidases in the sciatic nerves of normal and hexachlorophene intoxicated developing rats.

Journal of Neurocytology 6, 39-47.

TSIEN, R.W., WEINGART, R. (1976)

Inotropic effect of cyclic AMP in calf ventricular muscle studied by a cut end method.

Journal of Physiology 260, 117-141.

VALENTIN, G. (1861)

Die Untersuchung der Pflanzen und der Thiergewebe in polarisiertem Lichte.
Leipzig 1861.

VAN BUREN, J.M., AKERT, K., SANDRI, C., MOOR, H. (1977)

Neuritic growth cone and ependymal gap junctions in the feline subfornical organ during early development.
Cell and Tissue Research 181, 27-36.

VANDENHEUVEL, F.A. (1965)

Structural studies of biological membranes: the structure of myelin.

Annales of the New York Academy of Sciences 122, 57-76.

VERVERGAERT, P.H.J.Th., ELBERS, P.F., LUITINGH, A.J., VAN DEN BERG, H.J. (1972)

Surface patterns in freeze-fractured liposomes.
Cytobiology 6, 86-96.

VIRCHOW, R. (1854)

Über das ausgebreitete Vorkommen einer dem Nervenmark analogen Substanz in den thierischen Geweben.

Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin (Virchow's Archiv) 6, 562-572.

WADE, J.B., KARNOVSKY, M.J. (1974a)
The structure of the zonula occludens. A single
fibril model based on freeze-fracture.
Journal of Cell Biology 60, 168-180.

WADE, J.B., KARNOVSKY, M.J. (1974b)
Fracture faces of osmotically disrupted zonulae
occludentes.
Journal of Cell Biology 62, 344-350.

WALLER, A. (1850)
Experiments on the section of the glossopharyngeal
and hypoglossal nerves of the frog, and observations
of the alterations produced thereby in the structure of
their primitive fibers.
Philosophical Transactions of the Royal Society London,
for the year 1850, 423-429.

WALLER, A. (1852)
Sur la reproduction des nerfs et sur la structure et
les fonctions des ganglions spinaux.
Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche
Medizin (Müller's Archiv) 1852, 392-401.

WEBSTER, H. deF. (1965)
The relationship between Schmidt-Lantermann incisures
and myelin segmentation during Wallerian degeneration.
Annales of the New York Academy of Sciences 122, 29-38.

WEBSTER, H. deF. (1971)
The geometry of peripheral myelin sheaths during their
formation and growth in rat sciatic nerves.
Journal of Cell Biology 48, 348-367.

WECHSLER, W., HAGER, H. (1961)
Elektronenmikroskopische Befunde bei Muskelatrophie
nach Nervendurchtrennung bei der weißen Ratte.
Beiträge zur Pathologischen Anatomie und zur allgemei-
nen Pathologie 125, 31-53.

WEINBERG, H.J., SPENCER, P.S. (1978)
The fate of Schwann cells isolated from axonal contact.
Journal of Neurocytology 7, 555-569.

WEISS, P. (1934)
In vitro experiments on the factors determining the
course of the outgrowing nerve fiber.
Journal of Experimental Zoology 68, 393-448.

WEISS, P. (1945)

Experiments on cell and axon orientation in vitro:
The role of colloidal exsudates in tissue organisation.
Journal of Experimental Zoology 100, 353-386.

WEISS, P., TAYLOR, A.C. (1944)

Further experimental evidence against "Neurotropism"
in nerve regeneration.
Journal of Experimental Zoology 95, 233-257.

WEISS, P., WANG, H. (1945)

Transformation of adult Schwann cells into macrophages.
Proceedings of the Society of Experimental Biology
and Medicine 58, 273-275.

WILEY, C.A., ELLISMAN, M.H. (1980)

Row of dimeric particles within the axolemma and
juxtaposed particles within glia, incorporated into a
new model for the paranodal glial-axonal junction at
the node of Ranvier.
Journal of Cell Biology 84, 261-280.

WILKINS, M.H.F., BLAUROCK, A.E., ENGELMANN, D.M. (1971)

Bilayer structure in membranes.
Nature New Biology 230, 72-76.

WILLIAMS, P.L., HALL, S.M. (1971a)

Prolonged in vivo observations of normal peripheral
nerve fibres and their acute reactions to crush and
deliberate trauma.
Journal of Anatomy 108, 397-408.

WILLIAMS, P.L., HALL, S.M. (1971b)

Chronic Wallerian degeneration - an in vivo and ultra-
structural study.
Journal of Anatomy 109, 487-503.

WORTHINGTON, C.R. (1969)

Structural parameters of nerve myelin.
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 63,
604-611.

WORTHINGTON, C.R., BLAUROCK, A.E. (1969)

A low-angle x-ray diffraction study of the swelling
behavior of peripheral nerve myelin.
Biochimica et Biophysica Acta 173, 427-435.

YEE, A.G., REVEL, J.-P. (1978)

Loss and reappearance of gap junctions in regenerating
liver.
Journal of Cell Biology 78, 554-564.

YOUNG, J.Z. (1942)

The functional repair of nervous tissue.
Physiological Reviews 22, 318-374.

ZAMPIGHI, G., ROBERTSON, J.D. (1973)

Fine structure of the synaptic discs separated from
the goldfish medulla oblongata.
Journal of Cell Biology 56, 92-105.

9. DANKSAGUNGEN

Meinem verehrten Lehrer und Doktorvater, Herrn Professor Dr. Karl Meller, danke ich zutiefst für die Führung meiner ersten Schritte in das Gebiet der Neuroanatomie, dafür daß er mir in langen Gesprächen unschätzbare Anregungen gab, meinen Fragen ständig zugänglich war und daß er auch später selbständige Entwicklungen unterstützte und bestärkte. Weiterhin danke ich ihm dafür, daß er mir dieses Thema überließ und dessen Durchführung durch Ideen und Mittel förderte. Nach über fünfjähriger Zusammenarbeit bin ich ihm für das Vorbild und die Orientierung, die er mir auf den Weg gab, tief verbunden.

Herrn Professor Dr. K. Hinrichsen, Inhaber des Lehrstuhles für Anatomie I, danke ich für sein wohlwollendes Interesse an dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. Pedro Mestres danke ich für viele bereichernde Gespräche und für seine freundschaftliche Unterstützung.

Herrn K. Donberg schulde ich Dank für die zahlreichen Fotoarbeiten.

Herr K. Barteczko zeichnete die Abbildungen 4, 5, 8, 34 und 35, wofür ich ihm verbunden bin, zumal er mir darüber hinaus Einblick in die Techniken der grafischen Dokumentation gab.

Frau Cläre Bloch war mir bei der Abfassung der Reinschrift des Manuskriptes eine große Hilfe und kritische Beraterin.

Zum Schluß möchte ich allen meinen Freunden danken, die indirekt zu dieser Arbeit beigetragen haben.

10. LEBENSLAUF

Am 9.10.1954 wurde ich, Wolfram Tetzlaff, als Sohn des Arztes Dr. Günther Tetzlaff und seiner Ehefrau, der Studienassessorin Anne-Dorothee, geb. Frank, in Berlin geboren. Gemeinsam mit meinem älteren Bruder Gerhard, geboren am 28.5.1952, wuchs ich im Elternhaus auf.

Von 1961 bis 1965 besuchte ich die Grundschule in Wuppertal und anschließend das staatliche neusprachliche Ernst-Moritz-Arndt-Gymnasium in Remscheid, an dem ich 1973 das Abitur ablegte.

Im Herbst 1973 nahm ich an der Ruhr-Universität in Bochum das Studium der Humanmedizin auf und wurde hier gegen Ende des ersten Semesters studentischer Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. K. Meller. Nach der Ärztlichen Vorprüfung im August 1975 wechselte ich für den klinischen Ausbildungsabschnitt an die Universität Essen und konnte somit das Studium mit der Labortätigkeit in Bochum verbinden. Das Praktische Jahr absolvierte ich an den Städtischen Kliniken Duisburg, da hier mein Wahlfach Neurologie angeboten wurde.

Nach Ärztlicher Prüfung und Approbation im Herbst 1979 trat ich vom 15. November 1979 bis zum 30. Juni 1980 die Verwaltung einer Assistentenstelle am Lehrstuhl für Anatomie I der Ruhr-Universität in Bochum an.

Zum 1.7.1980 wurde ich zum Zivildienst einberufen, den ich seitdem auf eigenem Wunsch am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München ableiste.

Nebenbei hatte ich Gelegenheit, das amerikanische Examen der Educational Commission for Foreign Medical Graduates abzulegen.

München, im Dezember 1980

VERÖFFENTLICHUNGEN

Meller, K. and Tetzlaff, W. (1975)

Neuronal migration during the early development of the cerebral cortex.

Cell and Tissue Research 163, 313-325

Meller, K. and Tetzlaff, W. (1976)

Scanning electron microscopic studies on the development of the chick retina.

Cell and Tissue Research 170, 145-159

Meller, K. and Tetzlaff, W. (1977)

The development of membrane specializations in the receptor-bipolar-horizontal cell synapse of the chick embryo retina.

Cell and Tissue Research 181, 319-326

Dermietzel, R., Meller, K., Tetzlaff, W. and Waelsch, M. (1977)

In vivo and in vitro formation of the junctional complex in choroid epithelium.

Cell and Tissue Research 181, 427-441

Tetzlaff, W. (1978)

The development of a zonula accludens in peripheral myelin of the chick embryo.

Cell and Tissue Research 189, 187-201

ERKLÄRUNG

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unerlaubte Hilfe durchgeführt und verfaßt zu haben.

Sie wurde weder in dieser noch in ähnlicher Form bei einer anderen Abteilung oder entsprechenden Einrichtung einer Hochschule eingereicht.

Wolfram Tetzlaff

Gedruckt und gebunden in der Arbeitstherapie des Max-Planck-Institutes für
Psychiatrie, München
Abbildungen hb-Druck
München

